



X 21(76)
GEOMAR
- Bibliothek -
Wischhofstr. 1-3
D-24148 Kiel

WOLFRAM W. BRENNER

**GRUNDLAGEN UND
ANWENDUNGSMÖGLICHKEITEN DER
MIKRO-ABSORPTIONSPHOTOMETRIE
FÜR ORGANISCH-WANDIGE
MIKROFOSSILIEN**

GEOMAR
Forschungszentrum
für marine Geowissenschaften
der Christian-Albrechts-Universität
zu Kiel

KIEL 1998
GEOMAR REPORT 76

GEOMAR
Research Center
for Marine Geosciences
Christian Albrechts University
in Kiel

Habilitationsschrift
zur Erlangung der *venia legendi*
der mathematisch-naturwissenschaftlichen Fakultät
der Christian-Albrechts-Universität zu Kiel
Zum Druck genehmigt am 22.4.1998

Redaktion der Serie: Gerhard Haass

Managing Editor: Gerhard Haass

GEOMAR REPORT
SSN 0936-5788

GEOMAR REPORT
ISSN 0936-5788

GEOMAR
Forschungszentrum
für marine Geowissenschaften
D-24148 Kiel
Wischhofstr. 1-3
Telefon (0431) 600-2555
Telefax (0431) 600-2928

GEOMAR
Research Center
for Marine Geosciences
D-24148 Kiel /Germany
Wischhofstr. 1-3
Telephone (49) 431 / 600-2555
Telefax (49) 431 / 600-2928

Inhaltsverzeichnis

1. Einleitung	1
1.1. Forschungsbedarf und Ziele	1
1.2. Kerogen: Organisch-wandige Mikrofossilien und Chemofossilien	4
1.3. Möglichkeiten der Analyse fossiler, gerüstbildender Biopolymere	6
1.3.1. Visuelle Untersuchung	6
1.3.2. Physikalisch-chemische Analyseverfahren	7
2. Grundlagen der Spektralphotometrie	8
2.1. Absorption organischer Verbindungen	8
2.2. Spektreninterpretation organischer Verbindungen	10
2.2.1. Polyene	10
2.2.2. Benzoide Aromate	11
2.2.3. Carbonyle	12
2.3. Bandenanalyse	12
3. Grundlagen der Mikroskop-Spektralphotometrie	17
3.1. Gerätedaten	17
3.2. Kalibrierung	17
3.3. Auswertemethoden	18
4. Biologische Zuordnung der gerüstbildenden Biopolymere	25
4.1. Lipide	25
4.1.1. Wachse	25
4.1.2. Cutin und Cutan	26
4.1.3. Suberin	27
4.1.4. Algaenan, Botryococcene und "Algen-Sporopollenin"	28
4.1.5. Sporopollenin	29
4.1.6. Isoprenoide	32
4.2. Polymere Aromate (Lignin)	32
4.3. Polysaccharide	34
4.3.1. Cellulose	34
4.3.2. Chitin	36
4.3.3. Murein	37
5. Probenaufbereitung und Präparation	38
5.1. Einfluß der Aufbereitungsagenzien auf organisch-wandige Mikrofossilien	38
5.2. Mikro-absorptionsphotometrische Untersuchung der Veränderung von <i>Pinus</i> -Sporopollenin durch Aufbereitung und Präparationschemikalien	40
5.2.1. Absorptionsspektrum von <i>Pinus</i> -Sporopollenin	40
5.2.2. Acetolyse	41
5.2.3. Salpetersäureoxidation	46
5.2.4. Organische Lösungsmittel	48
5.2.5. Einfluß von Aminen	51
5.2.6. Einfluß von Halogensäuren	52
5.2.7. Verseifung	53
5.2.8. Oxidationsmittel	54
5.3. Präparationsverfahren für die Mikro-Spektralphotometrie	55
5.3.1. Mechanische Verfahren	55
5.3.2. Chemische Verfahren	56

6. Organisch-wandige Mikrofossilien: Biologie, Biopolymere und Absorptionsspektren	59
6.1 Cyanophyceae	59
6.2 Pilze	62
6.3 Eukaryotische Algen	65
6.3.1. Dinophyceae (Pyrrhophyceae)	65
6.3.2. Chlorococcales	69
6.3.3. Zygnematales	74
6.4. Phytoklasten	76
6.4.1 Sporen und Pollen	76
6.4.2. Kutikula	82
6.4.3. Holzreste	88
6.5. Protozoa	92
6.5.1. Rhizopoda	92
6.5.2. Ciliata	95
6.6. Metazoa/Zoomorphe	96
6.6.1. Eier und Dauerstadien	97
6.6.2. Scolecodonten	101
6.6.3. Exoskelette sensu lato	103
6.7. Evolutionsmodell der gerüstbildenden Biopolymere	106
7. Anwendungsbeispiele für die Mikro-Absorptionsphotometrie von <i>Pinus</i>-Pollen	108
7.1. Variation der Absorptionsspektren von <i>Pinus</i> -Pollen in postglazialen Sedimenten d er Kieler Förde	109
7.2. Jährliche und saisonale Schwankungen der Absorptionsspektren von <i>Pinus</i> -Pollen aus laminierten Sedimenten des Belauer Sees	115
7.3. Interpretation der Spektrenvariation von <i>Pinus</i> -Pollen	119
8. Diskussion und Zukunftsperspektive für die Mikro-Absorptionsphotometrie	122
Dank	124
Literatur	125

Zusammenfassung

Die Absorptionsphotometrie ist ein Standardverfahren in der Chemie und Biochemie zur qualitativen und quantitativen Analyse komplexer organischer Moleküle. Durch die Kombination eines Spektrometers mit einem Lichtmikroskop können diese Untersuchungen sogar noch im Mikrometerbereich durchgeführt werden. Die Mikro-Absorptionsphotometrie wird heute überwiegend in der Forensik und Materialprüfung eingesetzt. Anwendungsmöglichkeiten dieser Analysemethode für geologisch-paläontologische Fragestellungen wurden bisher praktisch noch nicht überprüft.

Das Ziel dieser Arbeit ist es, die Möglichkeiten der Mikro-Absorptionsphotometrie für die Untersuchung des fossilen organischen Wandmaterials der Mikrofossilien auszuloten und standardisierte Präparations- und Aufbereitungsverfahren für die Praxis zu entwickeln. Grundvoraussetzung für alle spektralphotometrischen Untersuchungen an fossilem organischem Material ist ein Präparationsverfahren, das keine chemischen Veränderungen der zu untersuchenden Objekte verursacht. Hierzu wurden die Auswirkungen der Präparationschemikalien sowohl auf fossiles als auch auf rezent es organisches Material getestet. Anhand dieser Ergebnisse wurden verschiedene, für spezifische Fragestellungen angepaßte Präparationsverfahren entwickelt.

Der zentrale Punkt bei diesen Initialuntersuchungen ist die Differenzierbarkeit der verschiedenen fossilen organischen Wandsubstanzen anhand ihrer Absorptionsspektren. Um einen möglichst umfassenden Überblick über die chemische Variabilität der Biopolymere organisch-wandiger Mikrofossilien zu erhalten, sind in diesen Untersuchungen auch bisher wenig beachtete bzw. untersuchte Mikrofossilien wie Cyanophyceen oder Proto- und Metazoen-Dauerstadien einbezogen. Durch Depolymerisationsexperimente und vergleichende Untersuchungen von rezentem und fossilem Material ist es möglich, die Anwendbarkeit der Mikro-Absorptionsphotometrie der einzelnen organisch-wandigen Mikrofossilien für spezifische geologisch-paläontologische Fragestellungen abzuschätzen. Unter Berücksichtigung der phylogenetischen Zusammenhänge kann zudem auch ein Evolutionsmodell der Biopolymere organisch-wandiger Mikrofossilien aufgestellt werden.

Als Beispiel für die direkte, anwendungsbezogene Mikro-Absorptionsphotometrie von Pollen wurden zwei Sedimentkerne bearbeitet. Die bisherigen Untersuchungen ergaben, daß die chemischen Veränderungen der Pollenwand bei der Ablagerung und im Sediment nahezu ausschließlich mikrobieller Tätigkeit zuzuschreiben sind, welche durch Umweltfaktoren wie Temperatur, Salinität oder Durchlüftung (Stürme, Bioturbation) gesteuert werden. Anhand der Absorptionsspektren von *Pinus*-Pollen aus einem Sedimentkern der Kieler Förde kann gezeigt werden, daß die Veränderungen in den benthischen, mikrobiellen Ökosystemen direkt durch die Mikro-Spektralphotometrie erfaßt werden können und diese mit der postglazialen Klimaentwicklung korrelierbar sind. Mehr noch, durch die differenzierte, hochauflösende Beprobung von laminierten Sedimenten (Warven) aus dem Belauer See kann belegt werden, daß Veränderungen von Umweltparametern bis in den saisonalen Bereich spektralphotometrisch nachweisbar sind. Die Mikro-Spektralphotometrie ist somit unter anderem ein Analyseverfahren, mit dem die Dynamik fossiler Ökosysteme bis in den saisonalen Bereich erfaßt werden kann und das dadurch völlig neue Wege in der Erforschung des Paläoklimas und der Paläoökosysteme ermöglicht.

Abstract

Absorption photometry is a widely used analytical technique in chemistry and biochemistry to analyse complex organic molecules. The combination of a light-microscope and a spectrometer provides spectral analyses in micrometer dimension. Commonly, the micro-absorption photometry is used in forensic and material testing. Hitherto, possible applications of this analytical technique for geology and paleontology have not been examined.

The aim of this paper is to prove the possibilities of micro-absorption photometry analyses for organic wall-material of microfossils, and to standardize the preparation technique for practical use. The prerequisite for all spectral photometric investigations is to establish a preparation method which does not affect the chemical structure of the organic-walled microfossils. Therefore, the influence of various chemicals on recent and fossil organic material was tested, with the aim to develop the best preparation technique for different analytical questions.

The central point of these investigations is the possibility of differentiation between various fossil wall-material and their absorption spectra. To get an extensive overview about the chemical variations in biopolymers of organic-walled microfossils, rarely investigated microfossils, such as cyanophytes and resting stages of various proto- and metazoans were included in this investigation. Based upon depolymerisation experiments and the comparison of fossil and recent material, an assessment for the potential application of the different microfossils for specific geological and paleontological questions can be outlined. Taking into account the phylogenetic links in organic-walled microfossils, an evolutionary model for biopolymers can be established.

First testings for the practical use of micro-absorption photometry on pollen were carried out on two sediment cores. The investigation shows that the chemical changes in the pollen wall during the sedimentation process and within the sediment are nearly exclusively caused by microbial activity, driven by environmental factors such as temperature, salinity or oxygen content (due to bioturbation or storm events). Based on the absorption spectra of *Pinus* pollen from a sediment core taken in Kiel Fjord, it became obvious that the changes of microbial ecosystems can be detected by using this technique. The results can directly be correlated to postglacial climatic changes. Moreover, high resolution sampling of laminated sediments from Lake Belau show that the spectral photometric analysis provide a good tool for environmental changes even to a seasonal basis. Therefore, micro-absorption photometry provides an analytical tool to map the dynamic of fossil ecosystems, and new ways for the exploration of paleoclimate and paleo-ecosystems can be pursued.

Grundlagen und Anwendungsmöglichkeiten der Mikro-Absorptionsphotometrie für organisch-wandige Mikrofossilien

"Wenn wir aber nicht träumen, sondern forschen, so erscheint uns die Geschichte des Lebens nicht als eine Anhäufung von Zufällen, sondern großen Gesetzen unterstellt. Nicht etwa mysteriösen Leitfaktoren, die anthropomorph auf Anpassung, Zweckmäßigkeit oder steigende Vervollkommnung tendieren, sondern Prinzipien, von denen wir schon einiges wissen, weiteres in Zukunft zu erfahren hoffen."

L. v. Bertalanffy (1949)

(Das biologische Weltbild; Francke, Bern)

1. Einleitung

1.1. Forschungsbedarf und Ziele

Mikrofossilien verdanken ihre Erhaltung vor allem dem widerstandsfähigen Material, aus dem ihre Exo- oder Endoskelette aufgebaut sind, sowie Ein- oder Auflagerungen in Zellwänden. Diese gerüstbildenden Substanzen bestehen aus Karbonat, Opal und Phosphat, aber auch aus besonders dauerhaften organischen Molekülen. Die Fossilien werden entsprechend als kalkige, kieselige, phosphatische oder organisch-wandige Mikrofossilien bezeichnet. Die Skelett- bzw. Wandsubstanzen der organisch-wandigen Mikrofossilien bestehen in der Regel aus besonders widerstandsfähigen Biopolymeren wie Sporopollenin, Chitin oder Cutin, die in ihrem ursprünglichen Verband erhalten bleiben und dadurch auch den jeweiligen Taxa zugeordnet werden können. Durch die Möglichkeit der direkten taxonomischen Zuordnung unterscheiden sich die organisch-wandigen Mikrofossilien von den sogenannten Chemofossilien, die als einzelne organische Moleküle von Organismen in kolloidaler oder gelöster Form im Sediment vorliegen.

Zu den organisch-wandigen Mikrofossilien zählen z.B. Sporen und Pollen (Palynomorphen sensu Hyde & Williams 1943¹), Kutikulen und andere Phytoklasten, Dinoflagellatenzysten, Grünalgen, Zysten und Loricae von Ciliaten, Foraminiferentapeten, Gehäuse von Thekamöben, Eier von Crustaceen und Insekten sowie deren Chitinpanzer, Kiefer und Greifhaken (Scolecodonten) von verschiedenen, überwiegend wurmartigen Organismen (z.B. Anneliden, Onychophora) und eine Reihe fossiler und rezenter Formen, deren biologische Zuordnung noch nicht oder nicht eindeutig geklärt ist (z.B. Chitinozoen, Acritarchen und die rezenten Gattungen *Halodinium*, *Hexasterias* u.a.).

¹ Hyde & Williams prägen den Terminus Palynologie (palyno πολυνω griech.= Staub, streuen) für die Sporen- und Pollenkunde 1943 in einem unveröffentlichten Rundbrief (Pollen Analysis Circular, Vol. 8:6)

Bisherige chemische Untersuchungen von fossilem organischem Material sind überwiegend auf die Kohle- und Ölprospektion fokussiert. Hierbei stand vor allem die Bestimmung des Reifegrads und der Qualität der Rohstoffvorkommen im Vordergrund. Bei den Mikrofossilien lag der Untersuchungsschwerpunkt, abgesehen von der Taxonomie, vor allem auf der Biostratigraphie und der Biochronologie. Neue Fragestellungen sind dagegen überwiegend auf die Auswirkung von Klimaänderungen und anthropogene Einflüsse auf die Biosphäre und die Wechselwirkung bzw. Rückkopplungsmechanismen zwischen Land und Meer ausgerichtet. Chemofossilien und organisch-wandige Mikrofossilien bieten für derartige Untersuchungen ein bisher noch unausgeschöpftes Reservoir an Informationen, zu deren Entschlüsselung neue Ansätze sowohl in der Methodik als auch in der analytischen Auflösung der einzelnen Ereignisse erforderlich sind. Vor allem die Biopolymere der verschiedenen organisch-wandigen Mikrofossilien, die zum Teil unter extremen Temperatur- und Druckbedingungen über Jahrtausende in ihrem ursprünglichen Verband erhalten bleiben, können auch für die Industrie Grundlagen für neue Produkte bzw. deren Synthese sein. Beispiel hierfür ist das Chitin, welches man zu Folien und spinnbaren Fasern verarbeitet oder in der Biomedizin mit geringer chemischer Abwandlung als Blutgerinnungsmittel, als Immuno-Adjuvans gegen Infektionen mit bestimmten Viren oder als Hautersatz nach Verbrennungen verwendet.

Entsprechend der unterschiedlichen biologischen Herkunft der organisch-wandigen Mikrofossilien variiert auch die chemische Zusammensetzung der Biopolymere und ihr Fossilisationspotential. Die daraus resultierende selektive Erhaltung der organisch-wandigen Mikrofossilien bzw. der organischen Substanz im Allgemeinen hat sowohl für chemische als auch für paläontologische Untersuchungen weitreichende Konsequenzen, da das Fehlen eines Taxons nicht nur stratigraphische oder ökologische Ursachen haben kann, sondern auch auf die selektive Erhaltung zurückführbar ist. Dies bedeutet aber, daß nur aufgrund des Vorhandenseins/Nichtvorhandenseins bestimmter Fossilgruppen im Sediment keine Aussagen über das tatsächliche Vorkommen gemacht werden können, solange das Erhaltungspotential der verschiedenen Gruppen der Mikrofossilien in den entsprechenden Faziesbereichen bzw. Sedimenten nicht bekannt ist. So können zum Beispiel bereits geringe Veränderungen in der Sedimentchemie die Ursache für ein selektives Lösen bestimmter Fossilgruppen sein und dadurch zu paläoökologischen und paläoklimatischen Fehlinterpretationen führen. Noch komplexer wird dieses Problem bei der Untersuchung des Eintrags von terrestrischen Organismen(-resten) und deren Zusammensetzung in marinen Sedimenten. Hierbei sind nicht nur die selektiven Erhaltungsbedingungen ein wichtiger Faktor, sondern auch die geographische und zeitliche Herkunft. So kann zum Beispiel die Unterscheidungsmöglichkeit zwischen direkt im Jahreszyklus oder durch Erosion in marine/lakustrische Sedimente eingetragenen Pollen sowie der selektive mikrobielle Abbau

des organischen Materials durch saisonale Schwankungen die Wirklichkeitsnähe einer Paläo-Umweltrekonstruktion entscheidend beeinflussen.

Um höchstauflösende Paläo-Umweltrekonstruktionen durchführen zu können, die wiederum Voraussetzung für die wirklichkeitsnahe Modellierung zukünftiger Umweltentwicklungen sind (the present is the key to the past, but the past is the key to the future), ist ein Verfahren zur Identifizierung der Sedimentationsgeschichte an einzelnen Individuen innerhalb eines Taxons notwendig. Organisch-wandige Mikrofossilien bieten für diese Untersuchungen einzigartige Voraussetzungen, da ihre Biopolymere bei der Fossilisation in Abhängigkeit von der Sedimentchemie unterschiedlich verändert werden. Ein Verfahren, mit dem diese chemischen "fingerprints" an fossilen Biopolymeren analysiert werden können, würde nicht nur der Paläoökologie und Paläoklimaforschung neue und vor allem hochauflösende Untersuchungsmöglichkeiten erschließen, die Untersuchung der Langzeitveränderungen von Biopolymeren könnte auch für die chemische Industrie bei der Entwicklung neuer Kunststoffe von großem Nutzen sein.

Für die Untersuchung von einzelnen organisch-wandigen Mikrofossilien können die herkömmlichen chemischen und biochemischen Analyseverfahren nicht herangezogen werden, da sie um mehrere Zehnerpotenzen höhere Gewichtsmengen zur Durchführung einer Analyse benötigen. Eine Möglichkeit, chemische Variationen an individuellen Mikrofossilien unterscheiden zu können, ist die Kombination eines Spektralphotometers mit einem Mikroskop, mit dem Messungen bis in den Mikrometerbereich durchgeführt werden können.

Ziel der vorliegenden Arbeit ist es, die Grundlagen für die Mikro-Spektralphotometrie an einzelnen organisch-wandigen Mikrofossilien zu entwickeln und zur Anwendungsreife zu führen. Die primäre Basis für alle weiteren Untersuchungen ist ein Aufbereitungs- und Präparationsverfahren, bei dem die Biopolymere der organisch-wandigen Mikrofossilien chemisch nicht verändert werden. Die dazu notwendigen Versuchsreihen wurden auch an rezentem Material durchgeführt, um genügend Material eines Taxons für konventionelle chemische Analysen zur Verfügung zu haben. Anhand dieser Untersuchungen konnten dann Veränderungen in den Spektren der einzelnen Taxa chemisch zugeordnet werden, was eine Interpretation der chemischen Vorgänge bei der Fossilisation der Biopolymere ermöglichte. In einer weiteren Untersuchungsreihe wurden die Spektren der wichtigsten organisch-wandigen Mikrofossilien und deren Veränderung erfaßt, um für spezifische Fragestellungen die optimalen Fossilgruppen für die spektralphotometrischen Analysen auswählen zu können. Anwendungsmöglichkeiten für die Mikro-Spektralphotometrie werden anhand von Fallbeispielen in einer abschließenden Diskussion vorgestellt.

1.2: Kerogen: Organisch-wandige Mikrofossilien und Chemofossilien

Fossiles organisches Material in Sedimenten wird allgemein als Kerogen bezeichnet, in der modernen Literatur werden jedoch verschiedene Definitionen für den Terminus angegeben. So benutzt Durand (1980) die Definition "... sedimentary organic matter insoluble in the usual organic solvents", während Tissot & Welte (1984) Kerogen als den organischen Bestandteil der Sedimente bezeichnen, der in wäßrigen Alkalien und organischen Lösungsmitteln unlöslich ist, was auch der Definition der Huminstoffe in der Bodenkunde entspricht. Andere Autoren, wie zum Beispiel Burgess (1974), definierten Kerogen als säureunlösliches, sedimentäres organisches Material. Unabhängig von den unterschiedlichen chemischen Definitionen wird Kerogen in zwei Gruppen eingeteilt, das diffuse oder amorphe Kerogen (AOM - amorphous organic matter) und die Organoklasten (Palynomorphen, Phyto- und Zooklasten), die anhand der mikroskopisch erkennbaren Strukturen eindeutig den Ausgangsorganismen zugeordnet werden können. Chemisch besteht das Kerogen aus komplexen organischen Molekülen oder Biopolymeren, die sowohl in ihrer ursprünglichen Struktur erhalten als auch durch verschiedene biologische oder chemische Degradations- und Kondensationsprozesse sowie durch die Diagenese verändert vorliegen können.

Polymere sind chemische Verbindungen, die durch hauptvalenzmäßige Verknüpfung mehrerer Einzelmoleküle, den sogenannten Grundbausteinen oder Monomeren, entstehen. Diese Makromoleküle können prinzipiell in zwei Hauptgruppen unterteilt werden, und zwar in die anorganischen Polymere, wie zum Beispiel die Silikate, und in die Biopolymere. Letztere wiederum können nach ihrem Chemismus in Homopolymere (Polymere mit nur einem Grundbaustein) oder in Heteropolymere mit mehreren Grundbausteinen eingeteilt werden. Eine weitere Möglichkeit der Differenzierung ist die funktionelle Zuordnung der Biopolymere zu Gerüst- und Speicherpolymeren sowie zu funktionalen Biopolymeren wie zum Beispiel Enzymen, Polynucleotiden und Pigmenten. Im Fossilen liegen die Biopolymere entsprechend ihrer ursprünglichen Funktion (Gerüstsubstanz, Stoffwechselprodukt etc.) entweder als organisch-wandige Mikrofossilien bzw. Palynomorphen *sensu lato* bei gerüstbildenden Polymeren (Cutin, Chitin, Sporopollenin etc.) oder als "Chemofossilien", also als einzelne Makromoleküle, die mikroskopisch nicht mehr erfaßt werden können, vor.

Für die Erhaltung der Biopolymere ist nicht nur die primäre Stabilität von Bedeutung, sondern wesentliche Faktoren sind auch die Sedimentchemie und die Einbettungsgeschichte. So bemerkte bereits H. Potonié (1908, S. 18) "...daß oft genug, namentlich in Sapropel-Bildungen sogar der grüne Pflanzen-Farbstoff, das Chlorophyll, noch vorhanden ist, während unter Verrotfungsbedingungen sich das Chlorophyll schnell zersetzt", was später auch von anderen Autoren bestätigt wurde (Benade, 1954; Potonié & Rehne, 1974; Potonié, & Reunert, 1935; Soma

et al., 1996 u.a.). Unter besonders günstigen Umständen können selbst tierische Zellen mit Zellkernen erhalten bleiben, wie die Funde aus der eozänen Braunkohle des Geiseltals belegen (Voigt, 1935, 1949).

Neuere Untersuchungen zeigen, daß auch einzelne organische Moleküle (Biomarker) zur Identifizierung spezifischer Organismengruppen, wie zum Beispiel Dinoflagellaten durch Dinosterole ebenso verwendet werden können wie als Temperatur-, Produktivitäts- und Klimaindikatoren (Brassell, 1993; Emeis et al., 1992; Thomas et al., 1993; u.a.). Die Erhaltung und Interpretation der Chemofossilien ist im Gegensatz zu den organisch-wandigen Mikro-fossilien wesentlich problematischer, da deren Vorkommen und Zusammensetzung stärker durch den Transportweg und die selektive Erhaltung beeinflußt werden. Hinzu kommt, daß die Biomarker einer selektiven Migration unterliegen können und daß, je nach angewandter Analysemethode, z.B. durch Katalysatorwirkung von Spurenelementen und Tonmineralen, die Interpretation der ursprünglichen Biomarker erheblich erschwert wird (Horsfield & Douglas, 1980; Katz, 1983; Tarafa et al., 1988; u.a.).

Im Gegensatz zur Vielfalt der Chemofossilien ist die chemische Variationsbreite der Gerüstbiopolymere geringer, sie können dafür aber einem konkreten Taxon bzw. Mikrofossil zugeordnet werden. Ein weiterer Vorteil ist, daß die chemische Veränderung der Biopolymere bzw. der "fingerprints" ihrer Fossilisationsgeschichte an Einzelindividuen in situ untersucht werden kann (Brenner, 1996). Darüber hinaus können auch taxon-spezifische chemische Variationen innerhalb eines Biopolymers zur evolutionsbiologischen Differentialdiagnose herangezogen werden.

Die Funktion der Gerüstpolymere liegt überwiegend in der Stabilisierung der Zellwände einzelner Organe oder des gesamten Organismus. Darüber hinaus kommen ihnen noch vielfältige Aufgaben wie passive Kontrolle der Transpiration und des Gasaustausches zu oder Schutzfunktion sowohl gegen mechanische als auch gegen biologisch-chemische Einwirkungen. Entsprechend ihrer Funktion, Beanspruchung und des Ausgangsorganismus werden nicht nur unterschiedliche chemische Grundbausteine für die Biopolymere verwendet, sondern es können auch abwechselnd verschiedene Biopolymere oder mineralische Lagen zu einem Verbundmaterial zusammengesetzt werden, wodurch die mechanischen und chemischen Eigenschaften an den jeweiligen Bedarf des Organismus angepaßt werden. Diese funktionsmorphologische und -chemische Optimierung ist praktisch bei allen Organismen nachzuweisen und kann bei fossilem Material auch zur Analyse der primären Funktion und der physikalisch-chemischen Belastung des jeweiligen Organismenrestes herangezogen werden (Reif, 1981; Seilacher, 1979 u.a.).

1.3. Möglichkeiten der Analyse fossiler, gerüstbildender Biopolymere

1.3.1. Visuelle Untersuchung

Die mikroskopische Untersuchung von Biopolymeren und speziell der Pollen begann mit der Erfindung des Mikroskops durch van Leeuwenhoek im Jahr 1662. Bereits zwei Jahre später beschreibt Nehemiah Grew in seinem Werk "The anatomy of plants" die Struktur von Pollen. Fossile Pollen wurden erstmals 1834 durch Göppert beschrieben. Die Differenzierung der einzelnen Pollen und anderer organisch-wandiger Mikrofossilien erfolgt bis heute vorwiegend anhand anatomischer Merkmale wie Habitus, Ornamentierung und Wandstruktur. Die taxonomische Klassifizierung des fossilen Materials orientiert sich, soweit möglich, an der biologischen Taxonomie. Entsprechend werden dann, vor allem in der Quartär-Paläontologie, bei Sporen und Pollen die Namen der Mutterpflanze übernommen oder bei Dinoflagellatenzysten die der vegetativen Stadien. Bei präquartären Fossilien ist eine biologische Zuordnung nur anhand morphologischer Kriterien häufig nicht mehr möglich, weshalb die Taxonomie auf einem rein morphographischen System beruht und das "biologische Artkonzept" auf fossile Organismen(-reste) nicht mehr angewendet werden kann (siehe Diskussionen bei Collinson, 1986; Jansonius, 1981; Potonié et al., 1950; Traverse, 1957; 1996; u.a.).

Außer der rein morphographischen Differenzierung der organisch-wandigen Mikrofossilien mittels Lichtmikroskop, Rasterelektronenmikroskop oder Transmissionselektronenmikroskop können auch indirekt chemische Variationen und Veränderungen anhand der Farbe und Autofluoreszenz nachgewiesen werden, die vorwiegend zur Bestimmung der Maturität bzw. des Inkohlungsgrads herangezogen werden (z.B. Gray & Boucot, 1975; Pradier et al., 1991; Van Gijzel, 1982). Anhand der Autofluoreszenz können auch taxonomische bzw. chemische Differenzierungen vorgenommen werden. So ist es zum Beispiel möglich, fossile Dinoflagellatenzysten-Gruppen anhand der Fluoreszenz zu unterscheiden. Bestimmte Zystengruppen (heterotrophe Protoperidiniaceen und Gymnodiniaceen) besitzen keine Autofluoreszenz, während andere Gruppen (phototrophe Goniaulacaceen und Peridiniaceen) eine intensive Fluoreszenz besitzen, was durch den unterschiedlichen Metabolismus erklärt werden kann (siehe Kap. 5.1).

Ein weiteres Verfahren zur chemischen Differenzierung ist das Färben und selektive Lösen spezifischer Biopolymere, wie es in der Biologie bzw. Histochemie gebräuchlich ist und bereits 1935 von Eisenack auch für organisch-wandige Mikrofossilien angewendet wurde. Eine chemische Differenzierung der organisch-wandigen Mikrofossilien anhand ihres unterschiedlichen Färbeverhaltens wurde bisher jedoch noch nicht durchgeführt, vielmehr diente das Färben vorwiegend der Kontrastierung zur besseren Bestimmbarkeit im Lichtmikroskop und zur Identifikation umgelagerter Mikrofossilien (Gray, 1965a; b; Stanley, 1966; Traverse, 1988; Wood, et al. 1996; u.a.).

1.3.2. Physikalisch-chemische Analyseverfahren

Für den überwiegenden Teil der in der organischen Geochemie angewandten Analyseverfahren (Pyrolyse GC/MS, ^{13}C NMR, FTIR-Spektroskopie etc.) werden für eine Messung zwar nur Probenmengen im Milligrammbereich benötigt, was aber bis zu mehreren Millionen Einzelexemplaren von organisch-wandigen Mikrofossilien entspricht. So liegt zum Beispiel das Gewicht eines *Juniperus*-Pollens bei $3,8 \times 10^{-9}\text{g}$ und das eines *Pinus*-Pollens bei $18,4 \times 10^{-9}\text{g}$ (Erdtman, 1969). Die Isolierung spezifischer Taxa für diese Untersuchungen durch gravitative Verfahren oder selektives Sieben ist im allgemeinen nicht möglich, da zu viele verschiedene Taxa ähnliche physikalische Eigenschaften aufweisen und ein direktes Auslesen unter dem Mikroskop jeden Zeitrahmen sprengen würde. Eine Ausnahme bilden Holz- und Blattreste bzw. deren Kutikulen, die bei günstigen Erhaltungsbedingungen auch im größeren Verband vorliegen können, und natürliche Anreicherungen wie zum Beispiel bei gesteinsbildenden Algen wie *Gloeocapsomorpha*, *Botryococcus* oder *Tasmanites*. Da es sich bei diesen Ablagerungen aber um Extrembiotope handelt, muß damit gerechnet werden, daß die chemischen Veränderungen der entsprechenden Mikrofossilien nicht unbedingt mit den Veränderungen unter "Normalbedingungen" vergleichbar sind.

Die bisher einzige Möglichkeit, außer dem histologischen Färbeverfahren, eine chemische Differenzierung an einzelnen Individuen oder Bruchstücken organisch-wandiger Mikrofossilien durchzuführen, sind mikro-spektroskopische Verfahren wie Emissions-(Fluoreszenz-)Photometrie, Reflexions-Photometrie und Absorptions-Photometrie. Von diesen Verfahren werden die Emissions- und Reflexions-Photometrie in der Geologie vorwiegend als Standardverfahren zur Maturitätsbestimmung angewendet (z.B. Braggio Morucchio, 1987; Teichmüller, 1971; Van Gijzel, 1967; 1979; Wilkins et al., 1995), während die Absorptions-Photometrie praktisch noch am Anfang der Entwicklung steht (Brenner, 1996).

2. Grundlagen der Spektralphotometrie

Die UV-VIS-Absorptionsspektroskopie ist eine der ältesten Methoden der Molekularanalyse. Bereits im Jahre 1729 erkannte Bouguer den Zusammenhang zwischen Schichtdicke und Abnahme der Lichtintensität, der 1760 von Lambert mathematisch formuliert wurde. Mit der endgültigen Formulierung des Bouguer-Lambert-Beerschen Gesetzes durch Beer 1852 wurde bereits die Grundlage für die quantitative Auswertung von Absorptionsmessungen geschaffen. Die erste Anwendung des Gesetzes erfolgte in der Kolorimetrie zur Konzentrationsbestimmung gelöster Substanzen, später in der Photometrie, die dann zur Spektralphotometrie führte. Parallel hierzu erfolgte die Entwicklung der Detektoren vom menschlichen Auge über das Photoelement und die Photozelle zum Photomultiplier für die Messungen der Intensität bei einzelnen Wellenlängen sowie von der Photoplatte zum Siliziumdiodentarget (Photo-Dioden-Array-Detektoren) für die direkte Aufnahme eines Gesamtspektrums.

Der heutige Einsatz der analytischen UV-VIS-Absorptionsspektroskopie erstreckt sich auf eine Vielzahl unterschiedlicher Anwendungsbereiche in der Chemie und Biochemie. Die klassische Anwendung ist nach wie vor die Bestimmung komplexer Moleküle und ihrer Konzentration in Lösungen in der organischen Chemie und die Bestimmung von Elementen mit Hilfe von Komplexbildnern wie zum Beispiel in der Trinkwasseranalytik, bei der mit der UV-VIS-Absorptionsspektroskopie Schwermetalle wie Blei oder Cadmium bis zu einer Konzentration von 0,0002 ppm nachgewiesen werden können. Eine besondere Rolle spielt die UV-VIS-Absorptions-Spektroskopie bei kinetischen Analysen. Hier kann die quantitative Umsetzung der verschiedenen Substanzen sogar während der chemischen Reaktionen direkt erfaßt werden. Der wesentliche Vorteil dieser Methode ist, daß diese Untersuchungen mit geeigneten Lichtleitern direkt im Reaktionsgefäß stattfinden können.

Ein weiteres spektroskopisches Verfahren ist die Fluoreszenz- oder Emissionsspektroskopie, die ebenfalls in weiten Bereichen der chemischen und biochemischen Analysen Anwendung findet (Wolfbeis, 1993). Ebenso wie die UV-VIS-Absorptionsspektroskopie wird die Fluoreszenzspektroskopie für die Analyse komplexer organischer Moleküle und deren Kinetik angewandt. Vor allem in der Biologie gibt es breite Anwendungsgebiete für Untersuchungen an Lebendmaterial bis hin zu in situ Produktivitätsmessungen im aquatischen Milieu anhand der Chlorophyllfluoreszenz der Algen durch entsprechende Sonden oder über Satellit.

2.1. Absorption organischer Verbindungen

Die elektromagnetische Strahlung wird durch die Wellenlänge (λ), die Frequenz (ν) oder die Wellenzahl ($\bar{\nu}$) charakterisiert, die durch die Gleichung $\bar{\nu} = \frac{1}{\lambda} = \frac{\nu}{c}$ verknüpft sind,

wobei c die Lichtgeschwindigkeit ist. In Abhängigkeit von der Bindungsenergie der Elektronen in einem Molekül werden die elektromagnetischen Wellen in unterschiedlichen Bereichen des Spektrums absorbiert, wobei die entsprechenden Elektronen in einen angeregten Zustand angehoben werden. Atomgruppen innerhalb eines Moleküls, welche die selektive Absorption beeinflussen, nennt man Chromophoren (chroma=Farbe; phoron=Träger) oder chromophore Gruppen, wie zum Beispiel $>\text{C}=\text{O}$, $>\text{C}=\text{N}-$; $>\text{C}=\text{C}<$ oder $-\text{N}=\text{O}$.

Im Bereich des ultravioletten und sichtbaren Lichts erfolgt die Absorption der Energie der elektromagnetischen Wellen durch Elektronen, im allgemeinen durch die Bindungs- bzw. Valenzelektronen, weshalb die UV-VIS-Absorptionsspektroskopie auch als Elektronen-Spektroskopie bezeichnet wird (Hesse et al., 1991; Jaffé & Orchin, 1962; Perkampus, 1986; u.a.).

Eine Klassifizierung der Elektronenübergänge (Banden) kann mit Hilfe der beteiligten Molekülorbitale vorgenommen werden. Aus besetzten bindenden σ - oder π - Orbitalen oder aus den nichtbindenden n -Orbitalen (einsame Elektronenpaare) kann durch Energieaufnahme ein Elektron in die leeren, antibindenden σ^* -, π^* - Orbitale angehoben werden. Entsprechend werden die Elektronenübergänge mit $\sigma \rightarrow \sigma^*$, $\pi \rightarrow \pi^*$, $n \rightarrow \pi^*$ usw. bezeichnet.

Die Absorptionsenergie bzw. Wellenlänge für isolierte Chromophoren liegt bei dem $n \rightarrow \pi^*$ - Übergang vorwiegend im Bereich zwischen 240 bis 300nm, für $\pi \rightarrow \pi^*$ und $n \rightarrow \sigma^*$ zwischen 180 und 250nm und für $\sigma \rightarrow \sigma^*$ mit der höchsten Energieaufnahme unterhalb 190 nm. Für die Mikro-Absorptionsphotometrie, deren untere Meßgrenze bei 240nm liegt, würde das bedeuten, daß nur $n \rightarrow \pi^*$ - Übergänge erfaßt werden können. In konjugierten Systemen, also in Verbindungen, in denen in einer alternierenden Sequenz von Einfachbindungen mindestens zwei Mehrfachbindungen (Chromophoren) vorhanden sind, wird der Absorptionsbereich von $n \rightarrow \pi^*$ - und $\pi \rightarrow \pi^*$ - Übergängen bis zum sichtbaren Licht erweitert, wodurch sie auch für die Mikro-Absorptionsphotometrie zugänglich sind. In konjugierten Doppelbindungen bilden alle Elektronen ein integriertes System, in dem die Elektronen über die an der Konjugation beteiligten Atome "verschmiert" (delokalisiert) sind und dadurch weniger Anregungsenergie benötigen, um in den Anregungszustand gehoben zu werden. Dadurch werden die Absorptionsbanden zu längeren Wellenlängen hin verschoben. Weitere Effekte der Konjugation sind die Verkürzung der Atomabstände, die häufig von den isolierten Doppelbindungen abweichende chemische Reaktionsweise und die Isomerisierung, die ebenfalls in den Absorptionsspektren nachgewiesen werden kann.

Die UV-VIS-Absorptionsphotometrie ist daher vorwiegend ein Analyseverfahren zur Ermittlung von Bindungsarten und ihrer quantitativen Verteilung innerhalb eines Moleküls. Das bedeutet, daß durch dieses Verfahren weniger die Größe und elementare

Zusammensetzung eines Moleküls bestimmt werden, sondern dessen Bindungscharakteristik, durch welche die Struktur eines Moleküls definiert ist. Die UV-VIS-Absorptionsphotometrie eignet sich daher besonders für die Untersuchung der Struktur komplexer organischer Verbindungen und ihrer Veränderungen. Ausgehend von einem Referenzmolekül bzw. Biopolymer, wie zum Beispiel Sporopollenin, Lignin oder Chitin eines eindeutig zugeordneten Taxons, können dann anhand des Absorptionsspektrums Veränderungen in den Biopolymeren analysiert und entsprechende Modelle für die Chemoevolution, Umwelteinflüsse und Diagenese erstellt werden.

2.2. Spektreninterpretation organischer Verbindungen

Die gerüstbildenden Biopolymere bestehen mit nur wenigen Ausnahmen (z.B. Chitin) vorwiegend aus Kohlenwasserstoffen und oxigenierten Kohlenwasserstoffen, deren isolierte chromophore Gruppen eine relativ hohe Anregungsenergie (kürzere Wellenlänge) benötigen (Tab. 1). Da in den Biopolymeren aber in der Regel konjugierte Systeme vorliegen, können diese auch mit der Mikro-Absorptionsphotometrie erfaßt werden.

Chromophor	Übergang	Beispiel	λ_{\max} nm
C-H	$\sigma \rightarrow \sigma^*$	CH ₄	122
C-C	$\sigma \rightarrow \sigma^*$	H ₃ C-CH ₃	130
-O-	$n \rightarrow \sigma^*$	H ₃ C-OH	183
	$n \rightarrow \sigma^*$	C ₂ H ₅ -O-C ₂ H ₅	189
>C=C<	$\pi \rightarrow \pi^*$	H ₂ C=CH ₂	165
	$\pi \rightarrow \pi^*$	C ₂ H ₅ -CH=CH-C ₂ H ₅	185
-C≡C-	$\pi \rightarrow \pi^*$	H-C≡C-H	173
	$\pi \rightarrow \pi^*$	H-C≡C-C ₂ H ₅	172
>C=O	$\pi \rightarrow \pi^*$	H ₃ C-CO-CH ₃	187

Tab. 1: Absorption isolierter chromophorer Gruppen, die in Abhängigkeit vom verwendeten Solvens variieren können. (nach Hesse et al., 1991)

2.2.1. Polyene

Polyene sind Kohlenwasserstoffe mit zwei oder mehr C=C-Doppelbindungen, die in kumulierte (H₂C=C=CH₂, Allentyp), konjugierte (H₂C=C-CH=CH₂, Dientyp) und isolierte Doppelbindungen (H₂C=CH-(CH)_n-CH=CH₂, Diolefinotyp) eingeteilt werden können. Ausgehend von dem einfachsten Alken, dem Ethylen, bei dem der $\pi \rightarrow \pi^*$ -Übergang im Vakuum-UV bei einer intensiven Bande bei $\lambda_{\max}=165\text{nm}$ liegt, können weitere Alkyl-

Gruppen und danach entsprechend weitere Doppelbindungen eingefügt werden, die durch Erniedrigung der Anregungsenergie der $\pi \rightarrow \pi^*$ -Übergänge eine langwellige Verschiebung der Absorption bewirken (Tab. 2).

Einen ebenfalls signifikanten Einfluß auf die Absorption der Olefine und Polyene hat die Konfiguration bzw. Isomerie der Moleküle. Entsprechend der Rotation um die C-C-Einfachbindungen können bei den Di- und Polyenen verschiedene ebene Konformationen entstehen, die man als trans- (transoide) und cis- (cisoide) Form bezeichnet (Abb. 1).

Verbindung	Formel	λ_{max}
Ethylen	$\text{H}_2\text{C}=\text{CH}_2$	165
2-Buten	$\text{H}_3\text{C}-\text{CH}=\text{CH}-\text{CH}_3$	174
1,3-Butadien	$\text{H}_2\text{C}=\text{CH}-\text{CH}=\text{CH}_2$	217
1,3,5-Hexatrien	$\text{H}_2\text{C}=\text{CH}-\text{CH}=\text{CH}-\text{CH}=\text{CH}_2$	258

Tab. 2: Beispiele für längstwellige Absorption in Olefinen und konjugierten Polyenen. (nach Hesse et al., 1991)

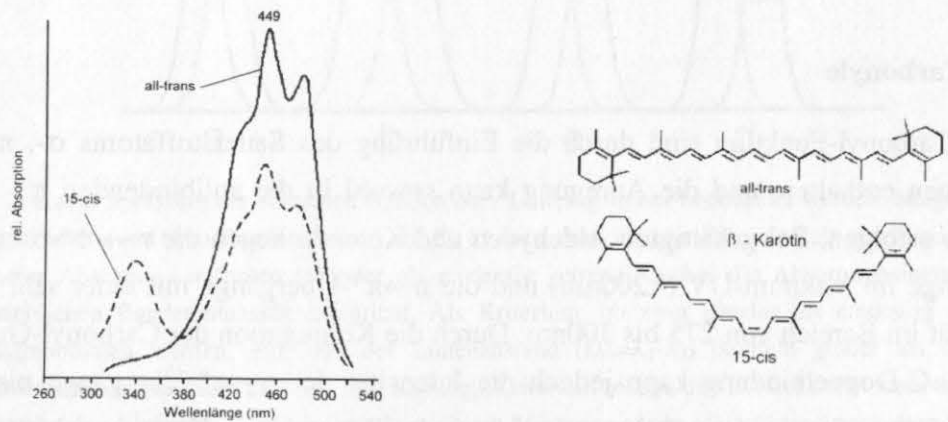


Abb. 1: Absorptionsspektren von β -Karotinoiden mit verschiedener Konfiguration. Durch den Einbau der cis-Konfiguration ändert sich die Symmetrie des Moleküls und somit auch die Energieverteilung der Bindungselektronen, wodurch die Absorption bei 340nm möglich wird und der sogenannte cis-Peak der Karotinoide entsteht. Die Hauptabsorptionsbande (I_{max}) bei 449nm bleibt auch bei der cis-Konfiguration erhalten, nimmt aber in ihrer Intensität ab. (nach Hesse et al., 1991)

2.2.2. Benzoid Aromate

Im Gegensatz zu 1,3,5-Hexatrien (Tab. 2) bilden die π -Elektronen beim Benzol Paare von entarteten Orbitalen. Aufgrund der Elektronenkorrelation sind drei angeregte Zustände mit drei energetisch verschiedenen Übergängen möglich (184nm und 203nm mit hoher Intensität - primäre Bande - und 256nm mit geringerer Intensität - sekundäre Bande -).

Durch die Einführung eines oder mehrerer Substituenten wird die Symmetrie des Benzols erniedrigt, wodurch die Absorption zu längeren Wellenlängen verschoben wird (Abb. 2).

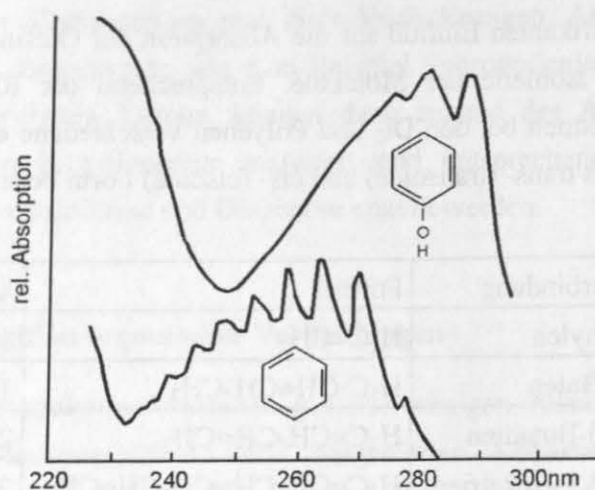


Abb.2: Durch die Einführung eines Substituenten, wie zum Beispiel die -OH Gruppe, wird die Symmetrie des Benzols erniedrigt und damit die Orbitalenergie verändert. Durch diese Vergrößerung des chromophoren Systems werden die Absorptionsbanden in langwelligere Bereiche verschoben. (nach Jaffé & Orchin, 1962)

2.2.3. Carbonyle

In der Carbonyl-Funktion sind durch die Einführung des Sauerstoffatoms σ -, π - und n -Elektronen enthalten, und die Anregung kann sowohl in die antibindenden π^* - und σ^* -Orbitale erfolgen. Bei gesättigten Aldehyden und Ketonen liegen die $n \rightarrow \sigma^*$ - und $\pi \rightarrow \pi^*$ -Übergänge im Vakuum-UV ($< 200\text{nm}$) und die $n \rightarrow \pi^*$ -Übergänge mit einer sehr geringen Intensität im Bereich von 275 bis 300nm. Durch die Konjugation der Carbonyl-Gruppe mit einer C=C-Doppelbindung kann jedoch die Intensität der $n \rightarrow \pi^*$ -Übergänge bis um das 100fache anwachsen. Mit zunehmender Länge der konjugierten Kette verschiebt sich der $\pi \rightarrow \pi^*$ -Übergang immer stärker in den sichtbaren Bereich und kann dabei die $n \rightarrow \pi^*$ -Bande einholen und aufgrund seiner höheren Intensität verdecken. Die Verschiebung der Absorption in den sichtbaren Bereich führt zur Farbigkeit, während die "nur" im UV-Bereich absorbierenden Substanzen farblos erscheinen.

2.3. Bandenanalyse

Häufig sind UV-VIS-Absorptionsspektren unstrukturiert oder weisen nur schwach ausgeprägte Schultern auf, so daß eine Zuordnung der Banden erschwert wird. Dies ist vor allem der Fall, wenn eine Bande aus mehreren Subbanden besteht oder wenn gleichzeitig verschiedene Chromophoren vorliegen. Im Extremfall kann ein einzelnes Maximum auch

durch Überlagerung zweier Banden entstehen, das als Summe zweier Gauß-Kurven dargestellt werden kann (Abb. 3). Je nach dem Überlappingsgrad der einzelnen Banden entstehen Summenkurven mit einem Plateau oder mehr oder weniger getrennten Maxima. Um komplexe Absorptionsspektren besser analysieren zu können, wird die erste oder zweite Ableitung der Absorptionskurve (Derivativspektroskopie) als Hilfsmittel herangezogen, wobei in der ersten Ableitung die Maxima und Minima jeweils dem Nulldurchgang entsprechen und die Wendepunkte der Absorptionskurve jeweils den Maxima bzw. Minima. Bei der zweiten Ableitung entsprechen die Maxima der Absorptionskurve den Minima und entsprechend die Minima den Maxima in der Ableitungskurve, die durch Invertierung in eine Analogkurve umgesetzt werden kann. Die Derivativspektroskopie stellt eine gute Ergänzung bzw. auch Überprüfung der Bandenanalyse dar, da hierbei überlagerte Banden deutlicher hervortreten (Abb. 4).

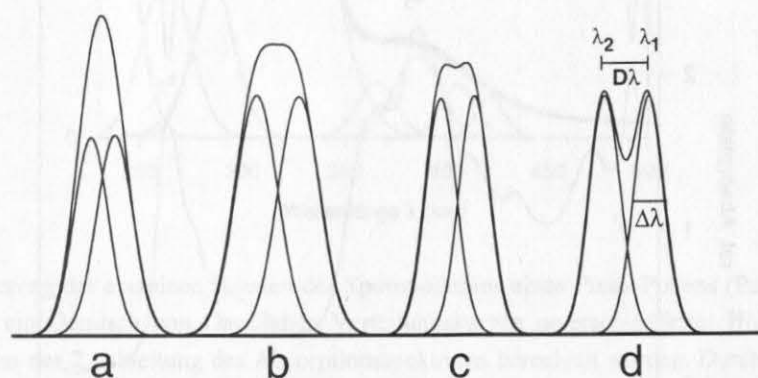


Abb.3: Ob in einem Spektrum die einzelnen Banden oder Linien getrennt beobachtet werden, hängt von der Bandenbreite und dem Bandenabstand ab. So können zwei getrennte Banden als ein Maximum mit höherer Absorption auftreten (a) oder als eindeutig getrennt, wobei die Absorptionsintensität der tatsächlichen Bandenintensität entspricht. Als Kriterium, ob zwei Banden als eindeutig aufgelöst wahrgenommen werden, gilt, daß der Linienabstand ($D\lambda = \lambda_1 - \lambda_2$) deutlich größer als die volle Halbwertsbreite ($\Delta\lambda$) sein muß (d). Das Rayleigh-Kriterium besagt, daß $D\lambda \geq \Delta\lambda$ sein muß, damit sich zwischen den Linienpositionen λ_1 und λ_2 noch ein Minimum ergibt (c), während nach dem Sparrow-Kriterium auch bei der Ausbildung eines konstanten Plateaus (b) noch von aufgelösten Banden gesprochen wird.

Eine weitere Methode der Bandenanalyse ist die Berechnung bzw. Rekonstruktion des Absorptionsspektrums anhand der Gauß-Funktion. Wie bereits aufgezeigt (Abb. 3), kann ein Absorptionsspektrum durch die Aufsummierung einzelner Gauß-Kurven, die den einzelnen Banden entsprechen, rekonstruiert werden. Dieses Verfahren eignet sich besonders zur quantitativen Analyse von Gemischen, bei denen die einzelnen Banden bzw. deren Lage bekannt sind (French et al., 1972), kann aber auch zur Ermittlung von Bandenlagen in unbekannten Substanzen herangezogen werden. Bei der Analyse von Substanzen mit unbekannter oder nur teilweise bekannter Struktur können in einem ersten

Schritt im Absorptionsspektrum nur Bereiche mit steilen Flanken zugeordnet werden, von denen vorausgesetzt werden kann, daß die Gauß-Funktion der einzelnen Banden mit dem entsprechenden Bereich in der Absorptionskurve identisch ist (Abb. 5). Für eine weitere Analyse ist es dann notwendig, die Ausgangssubstanz unter kontrollierten chemischen Bedingungen und unter Einbeziehung weiterer analytischer Verfahren zu verändern, um auch die "verdeckten" Banden bzw. deren Funktion ermitteln zu können.

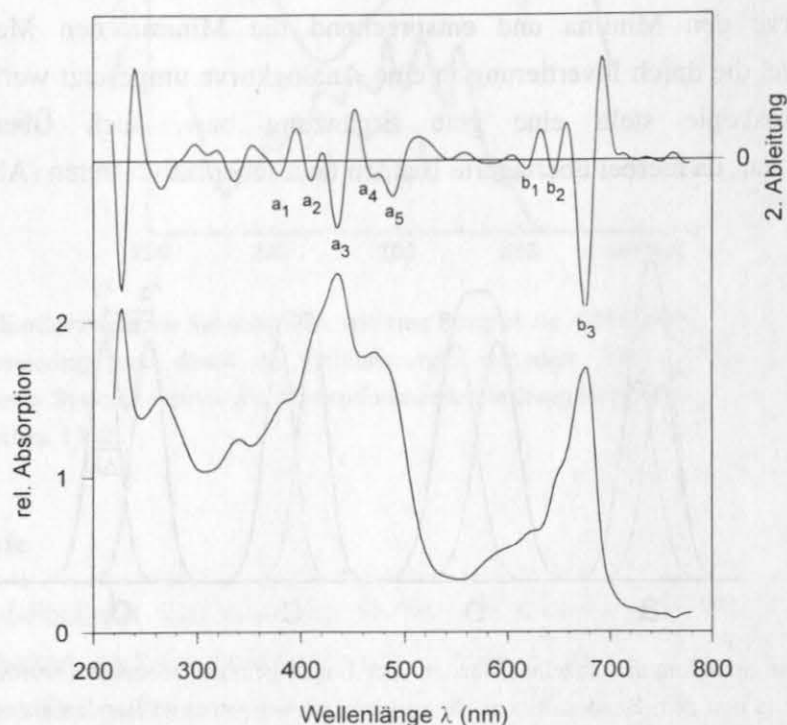


Abb. 4: Um in einem Absorptionsspektrum auch "versteckte" Banden nachweisen zu können, wird die zweite Ableitung des Absorptionsspektrums berechnet (Derivativspektroskopie), wobei die "versteckten" Banden als Minima in der Ableitung auftreten. Am Beispiel des Absorptionsspektrums eines einzelnen Chloroplasten von *Ficus benjamina* können die einzelnen berechneten Maxima der Chlorophyll- und Karotinabsorptionen im kurzwelligen Bereich (a_1 - a_5) und die Chlorophyllabsorptionen im langwelligen Bereich (b_1 - b_3) zugeordnet werden.

Bei organisch-wandigen Mikrofossilien bzw. Festkörpern und konzentrierten Lösungen ist der Extinktionskoeffizient nicht konstant, sondern hängt vom Brechungsindex des Objektes bzw. der Lösung ab. Hinzu kommt, daß durch Brechung an Grenzflächen, zum Beispiel beim Objekt-Einbettungsmedium-Übergang oder bei mehrschichtig aufgebauten organisch-wandigen Mikrofossilien auch innerhalb des Objekts, ein Lichtverlust hervorgerufen wird, der ebenfalls in das gemessene Absorptionsspektrum einfließt. Diese zum Teil wellenlängenabhängigen Effekte werden hier zusammenfassend als "Eigenabsorption" der Meßobjekte bezeichnet. Bei einer Reihe von organisch-wandigen Mikrofossilien und bei höhermaturen Palynomorphen kann die "Eigenabsorption" die

Absorptionsintensität der Chromophoren übersteigen, wodurch die Struktur des Absorptionsspektrums stark vereinfacht wird und eine direkte Zuordnung der Banden in dem gemessenen Absorptionsspektrum erschwert ist.

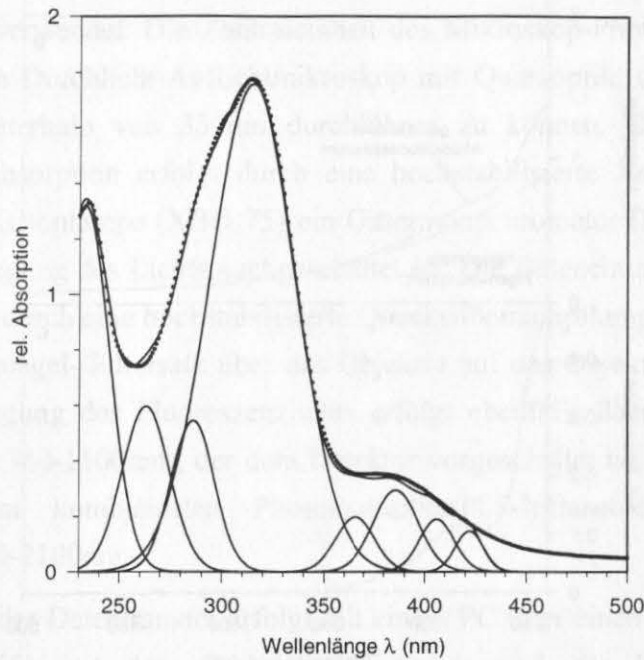


Abb. 5: Zur Modellierung der einzelnen Banden des Sporopollenins eines *Pinus*-Pollens (Punkte) wurde das Spektrum in ein Gemisch von Gaußschen Verteilungskurven unterschiedlicher Höhe und Position zerlegt, die aus der 2. Ableitung des Absorptionsspektrums berechnet wurden. Durch Optimieren der Höhe der Gauß-Kurven kann ein synthetisches Absorptionsspektrum berechnet werden (ausgezogene Linie), das dem gemessenen Spektrum entspricht. Die Gauß-Kurven geben in diesem Modell die tatsächliche Lage und Intensität der einzelnen Absorptionsbanden im Spektrum wieder.

Eine Trennung der "Eigenabsorption" von der tatsächlichen molekularen Absorption ist durch eine nichtlineare Modellierung nach folgendem Prinzip möglich: Die Bereiche des Absorptionsspektrums, die keine oder über größere Wellenlängenbereiche eine kontinuierliche Veränderung aufweisen, haben in der zweiten Ableitung der Spektralkurve den Wert Null, die als der "Eigenabsorptionsbereich" in einem gemessenen Spektrum betrachtet werden kann. Bei organisch-wandigen Mikrofossilien ist das in der Regel bei Wellenlängen oberhalb 350 nm bis 400 nm der Fall, wobei die Intensität des gemessenen Absorptionsspektrums zu den kürzeren Wellenlängen hin zunimmt. Dieser Bereich des "Eigenabsorptionsspektrums" kann als Exponentialfunktion berechnet werden. Durch Differenzbildung mit dem gemessenen Absorptionsspektrum ist es dann möglich, die Absorption der molekularen Bestandteile bzw. der Chromophoren des jeweiligen organisch-wandigen Mikrofossils zu modellieren (Abb. 6).

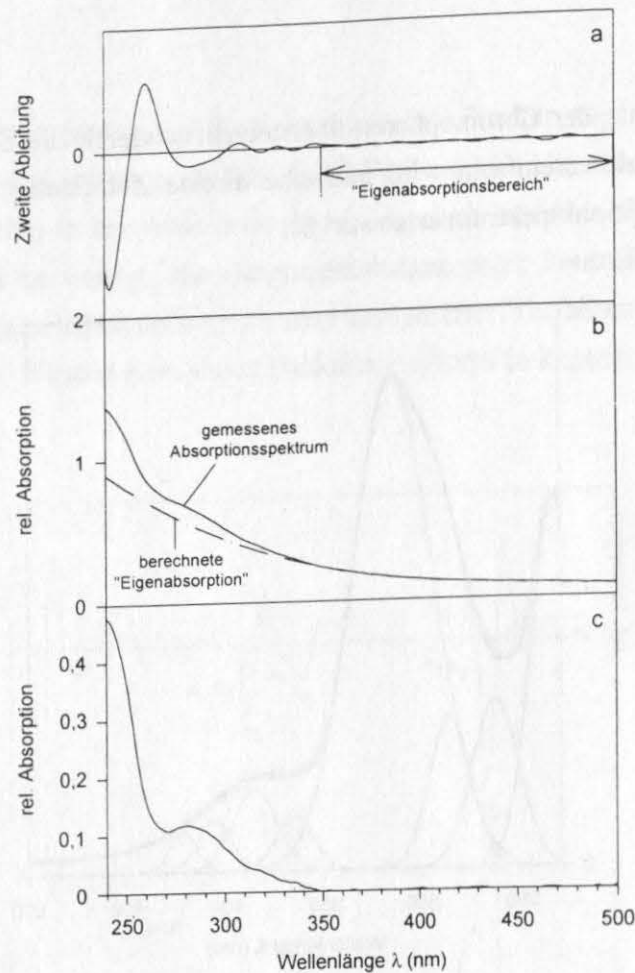


Abb. 6: Nichtlineares Absorptionsmodell für stark durch "Eigenabsorption" überprägte Absorptionsspektren am Beispiel von *Spiniferites bulloideus* (Holozän, westliche Ostsee). In der 2. Ableitung eines Spektrums haben Abschnitte, in denen keine Absorptionsveränderungen auftreten, den Wert "0" und sind als "Eigenabsorptionsbereiche" zu betrachten, in denen keine chromophorenbedingte Absorption auftritt (a). Dieser "Eigenabsorptionsbereich" des gemessenen Absorptionsspektrums kann als Exponentialfunktion dargestellt werden, die als Basislinie für das gesamte Absorptionsspektrum berechnet werden kann (b). Durch Subtraktion dieser Basislinie von dem gemessenen Spektrum erhält man ein Absorptionsspektrum, das der von Chromophoren bestimmten Absorption entspricht (c).

Für rein anwendungsorientierte Aufgaben, wie zum Beispiel die Untersuchung von Umwelt- oder Diageneseinflüssen auf das Sporopollenin können die primären Untersuchungen auf einen empirischen Spektrenvergleich beschränkt werden, da hierbei die direkte Korrelation der erfaßbaren Veränderung der Ausgangssubstanz mit den entsprechenden chemischen Ereignissen im Mittelpunkt des Interesses steht. Eine semi-quantitative Analyse der Absorptionsspektren kann hierbei durch den direkten Vergleich der einzelnen Maxima innerhalb des Spektrums durch Quotienten oder Indexbildung erfolgen (vergl. Kap. 3.3). Untersuchungen an verschiedenen Pollentaxa haben gezeigt, daß eine direkte und reproduzierbare Korrelation von Absorptionsspektren sowohl der evolutiven Stellung der verschiedenen Taxa als auch der chemischen Veränderung durch Umwelteinflüsse an einzelnen Taxa durch dieses Verfahren möglich ist (Brenner, 1996).

3. Grundlagen der Mikroskop-Spektralphotometrie

3.1. Gerätedaten

Für die vorliegenden Untersuchungen wurde das Mikroskop-Spektralphotometer MPM 800 der Fa. Zeiss verwendet. Die Zentraleinheit des Mikroskop-Photometers besteht aus einem kombinierten Durchlicht-Auflichtmikroskop mit Quarzoptik, um auch Messungen im UV-Bereich unterhalb von 350nm durchführen zu können. Die Beleuchtung für Durchlicht bzw. Absorption erfolgt durch eine hochstabilisierte Xenon- und Halogenlampe, wobei der Xenonlampe (XBO 75) ein Gittermonochromator (Bereich 230-850nm) zur spektralen Zerlegung des Lichts nachgeschaltet ist. Die Beleuchtung für Auflicht bzw. Fluoreszenz erfolgt durch eine hochstabilisierte Quecksilberdampfampe (HBO 100), deren Licht über einen Spiegel-/Filtersatz über das Objektiv auf das Objekt eingespiegelt wird. Die spektrale Zerlegung des Fluoreszenzlichts erfolgt ebenfalls über einen Gittermonochromator (Bereich 380-1100nm), der dem Detektor vorgeschaltet ist. Die Detektoreinheit besteht aus einem kombinierten Photomultiplier/PbS-Infrarotdetektor mit einem Meßbereich von 240-2100nm.

Die Steuerung und der Datentransfer erfolgt mit einem PC über einen Mikroskop-System-Prozessor (MSP 65) mit dem Programm "Lambdascan" der Herstellerfirma. Die Berechnung und Auswertung der Spektren wurde überwiegend mit den Programmen Lotus123[®], SigmaStat[®], SigmaPlot[®] und Peakfit[®] durchgeführt.

3.2. Kalibrierung

Alle im optischen Meßsystem integrierten Teile des Gerätes (Linsen, Filter, Photomultiplier etc.) haben ihre eigene spektrale Charakteristik, d.h. eine von der Wellenlänge abhängige Empfindlichkeit bzw. Eigenabsorption oder -reflexion. Im Gegensatz zu der Fluoreszenzmessung, bei der die Gerätespezifikation durch Vergleichsmessungen mit einem bekannten Spektrum berechnet werden muß, wie zum Beispiel mit einer Tungsten-Lampe bei einer definierten Farbtemperatur, ist eine optische Kalibrierung bei der Absorptionsmessung nicht nötig. Die Absorption wird aus dem Quotienten der gemessenen Transmissionen einer Leerstelle im Präparat und der Transmission des Meßobjekts berechnen hierbei ergibt die Division der gerätespezifischen Abweichung durch sich selbst den numerischen Wert Eins und kann vernachlässigt werden.

In allen Fällen ist jedoch die Kalibrierung des Monochromators und der softwareseitigen Ansteuerung erforderlich, um eine exakte Wellenlängenzuordnung zu erhalten. Diese Eichung des Monochromators kann mit einer Quecksilberdampfampe durchgeführt werden, da das Emissionsspektrum von Quecksilber eine Reihe schmaler und gut

strukturierter Banden sowohl im ultravioletten als auch im sichtbaren Bereich des Lichts liefert (Abb. 7).

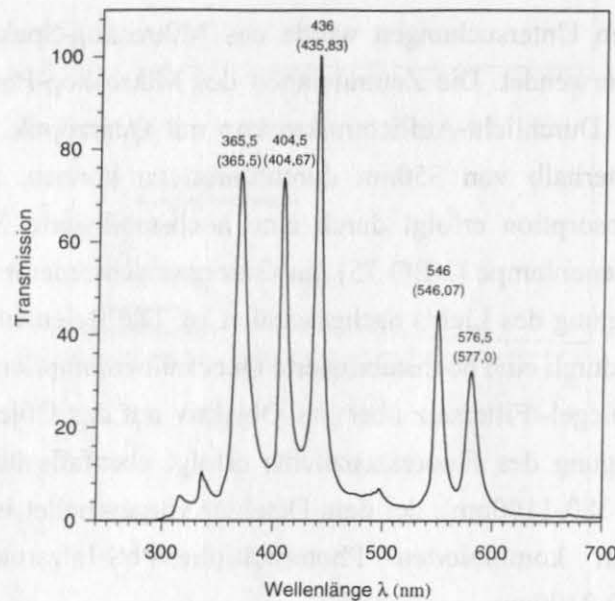


Abb. 7: Zur Kalibrierung des Monochromators wurde das Emissionsspektrum einer Quecksilberdampfampe mit einer Schrittweite von einem halben Nanometer gemessen, um das Meßsystem und -verfahren zu optimieren. Die Abweichung der Meßwerte von den tatsächlichen Emissionswerten des Quecksilbers (Werte in Klammer) liegen dabei innerhalb der Schrittweite des Monochromators. Nicht berücksichtigt sind hierbei die selektiven Intensitätsverluste durch das optische System, die auf die Kalibrierung der Wellenlängenzuordnung und die Ermittlung von Absorptionsspektren keinen Einfluß haben.

3.3. Auswertemethoden

Für Lichtabsorptionsmessungen vom UV- bis IR-Bereich an Lösungen ist das Bouguer-Lambert-Beersche Gesetz die mathematisch-physikalische Grundlage, das für monochromatisches Licht in verdünnter Lösung gilt: $E = \log \left(\frac{I_0}{I} \right) = \epsilon \cdot c \cdot d$. Hierbei ist E die Extinktion (optische Dichte, Absorption), I_0 die Intensität des in die Probe eintretenden und I die Intensität des aus der Probe austretenden monochromatischen Lichtes. c ist die Konzentration des lichtabsorbierenden Stoffes und d die Schichtdicke der Probe. ϵ ist der molare Extinktionskoeffizient, welcher im allgemeinen mit der Dimension $1000\text{cm}^2 \text{mol}^{-1}$ angegeben wird. In der UV-VIS Spektroskopie wird die Absorption spezifischer Substanzen in der Regel durch die Angabe der Wellenlänge des Hauptabsorptionsbereichs (λ_{max}) und dem molaren Extinktionskoeffizienten im Hauptabsorptionsbereich (ϵ_{max}) beschrieben.

In der Mikro-Absorptionsphotometrie kann ϵ bzw. ϵ_{max} häufig nicht angegeben werden, da es sich bei den mikroskopischen Präparaten nicht um Lösungen sondern um Festkörper

handelt und die exakte Dicke der jeweiligen Objekte sowie die Stoffkonzentration nicht bekannt ist, weshalb das Bouguer-Lambert-Beersche Gesetz nur bedingt anwendbar ist. Um einen Näherungswert für E zu erhalten, der als „relative Absorption“ bezeichnet ist, wird für I_0 die am Mikroskop-Photometer gemessene Transmission einer Leerstelle im Präparat und für I die Transmission des Objektes eingesetzt.

Die mikro-absorptionsphotometrischen Untersuchungen der fossilisierbaren und fossilen gerüstbildenden Biopolymere von Organismen beruhen auf der Bandenanalyse der taxonspezifischen Spektren (siehe Kap. 2.3.). Diese Untersuchungen unterscheiden sich von den gängigen chemischen Spektralanalysen, bei denen in der Regel Einzelmessungen direkt verglichen werden, durch die große Anzahl der zu vergleichenden Spektren, da für jede Probe jeweils eine Population von organisch-wandigen Mikrofossilien gemessen werden muß. Um auch eine größere Anzahl von Spektren miteinander vergleichen und analysieren zu können, ist es notwendig, neue oder bisher in der Spektroskopie nicht gebräuchliche Darstellungs- und Berechnungsmethoden anzuwenden. Darüber hinaus müssen die verschiedenen Verfahren an die einzelnen Mikrofossil- bzw. Substanzgruppen (z.B. Sporopollenin, Cutin, Lignin) angepaßt werden, um die substanzspezifischen Veränderungen fassen zu können.

Um zum Beispiel eine Ausgangsbasis für die Untersuchung von Sporopollenin zu haben, wird eine jeweils repräsentative Anzahl von Absorptionsspektren an verschiedenen Pollenarten gemessen. Diese können in einem ersten Ansatz direkt als Spektralkurven in einer Graphik dargestellt werden, die aber mit steigender Anzahl von Messungen an Übersichtlichkeit verliert. Die Unterschiede im spektralen Verlauf der Kurven sind dabei auf natürliche Variationen des Sporopollenins innerhalb einer Art zurückzuführen, während die Variationen in der Absorptionsintensität auf der unterschiedlichen Dicke der individuellen Pollenwand an den verschiedenen Meßpunkten beruhen (Abb. 8).

Um eine größere Anzahl von Spektren miteinander vergleichen zu können, ist es notwendig, ein Absorptionsspektrum durch einen möglichst einfachen numerischen Ausdruck zu beschreiben, der die größtmögliche Information über das Spektrum besitzt und gleichzeitig die dickenabhängige Variation in den Absorptionsspektren ausschließt. Aus umfangreichen Berechnungsreihen ergab sich, daß die optimale Darstellung der Spektren für den direkten Vergleich die Quotienten- bzw. Indexbildung aus den Hauptabsorptionsbereichen der jeweiligen Substanzen ist, mit der auch die chemischen Veränderungen direkt erfaßt werden können. Die Ermittlung der Hauptabsorptionsbereiche des Sporopollenins wurde anhand der Bandenanalyse (siehe Kap. 2.3.) an verschiedenen rezenten und fossilen Pollen durchgeführt. Dabei zeigte sich, daß die Hauptabsorptionsbanden sowohl für Gymnospermen-Sporopollenin als auch für Angiospermen-Sporopollenin überwiegend bei 286nm, 314nm und 386nm liegen. Um die

signifikantesten Absorptionsmaxima bzw. den Hauptabsorptionsbereich des Sporopollenins in einem numerischen Wert zu beschreiben, wurde ein Index (I_n) aus den beiden auf den Mittelwert normierten Hauptabsorptionsmaxima des Sporopollenins gemäß der Gleichung $I_n = \frac{I_{286} - I_{314}}{I_{300}} \times 10$ berechnet, wobei I_{286} die Absorptionsintensität bei 286nm, I_{314} die Absorptionsintensität bei 314nm und I_{300} die Absorptionsintensität bei 300nm ist. Ein weiteres Absorptionsmaximum bei 386nm wurde nur bei frischen bzw. rezenten Pollen gefunden und ist daher vor allem für biologisch-taxonomische Zuordnungen und umweltrelevante Untersuchungen von Interesse. Da bei diesem Maximum keine Intensitätsinversion zu dem Sporopollenin-Hauptmaximum auftritt, kann es durch einen einfachen Quotienten von I_{300} durch I_{386} dargestellt werden. Durch die graphische Darstellung dieser Werte ist es nicht nur möglich, die chemische Variationsbreite des Sporopollenins einzelner Arten darzustellen, sondern es kann auch eine klare Differenzierung zwischen den Sporopollenin-Typen der einzelnen Arten vorgenommen werden (Abb. 9).

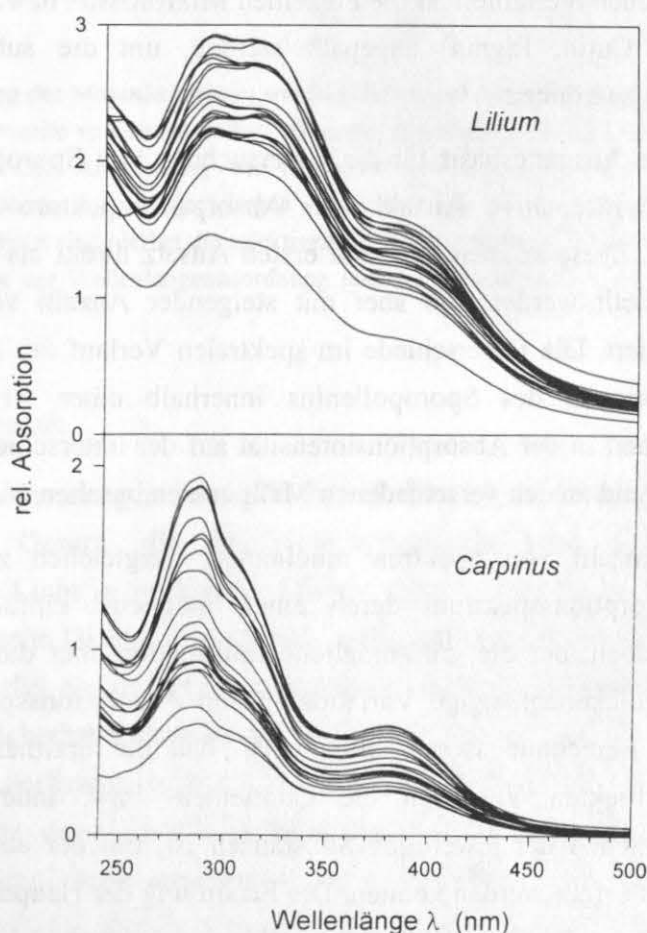


Abb. 8: Absorptionsspektren verschiedener rezenter Pollen. Gemessen wurden jeweils einzelne Individuen. Der Verlauf der Spektren bzw. die Verteilung der einzelnen Absorptionsmaxima für die einzelnen Taxa ist innerhalb der natürlichen Variationsbreite des Sporopolleninchemismus praktisch gleich. Die Intensitätsdifferenz der Absorption zwischen den einzelnen Individuen eines Taxons ist auf die unterschiedliche Dicke der Pollenwand zurückzuführen.

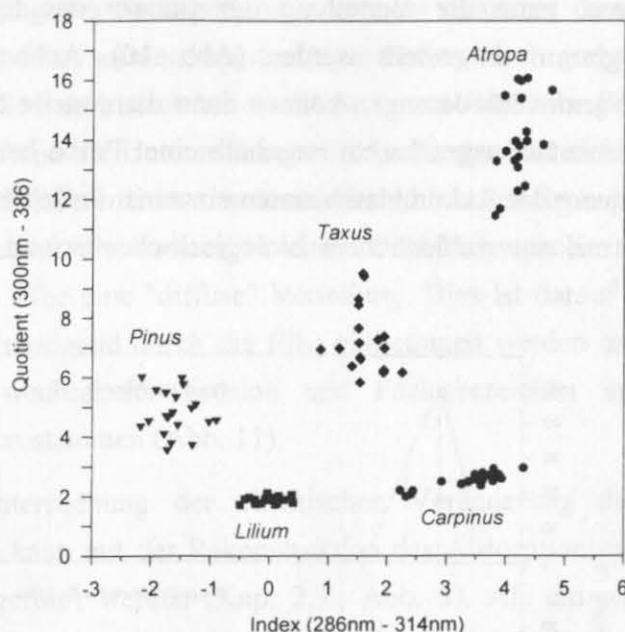


Abb. 9: Variationsbreite der Absorptionsmaximaverhältnisse verschiedener Pollen-Taxa, die einen taxonspezifischen Sporopolleninchemismus belegen. In Beziehung gesetzt wurden hierfür die Absorptionsverhältnisse bei 300nm und 386nm zu 286nm und 314nm, die signifikante Absorptionsmaxima bei Sporopollenin bilden.

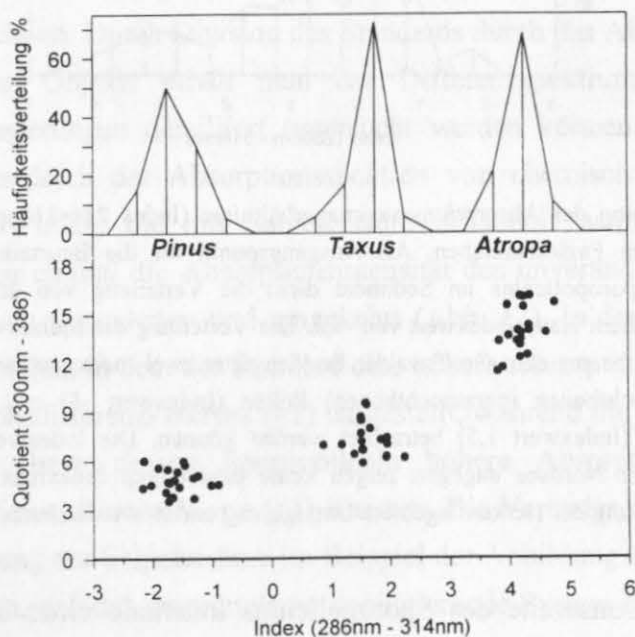


Abb. 10: Häufigkeitsverteilung (Histogramm; verbundene Säulen) der Absorptionsmaximaverhältnisse von 286nm und 314nm bei verschiedenen rezenten Pollen (vergl. Abb. 9).

Um die Auswirkung der chemischen Einflüsse in unterschiedlichen Sedimentmilieus auf das Sporopollenin und die unterschiedliche Sedimentationsgeschichte einer Pollenpopu-

lation zu quantifizieren, kann die Verteilung der Indizes des Sporopollenin-Hauptmaximums als Histogramm dargestellt werden (Abb. 10). Anhand der Verteilungsmodalität der Sporopolleninveränderungen können dann die Anteile der Pollen mit einer unterschiedlichen Sedimentationsgeschichte innerhalb einer Probe bestimmt werden. Das ermöglicht die Berechnung der Akkumulationsraten einzelner Pollenarten mit unterschiedlicher Herkunft bzw. mit unterschiedlichem biologisch-chemischem Abbau des Sporopollenins.

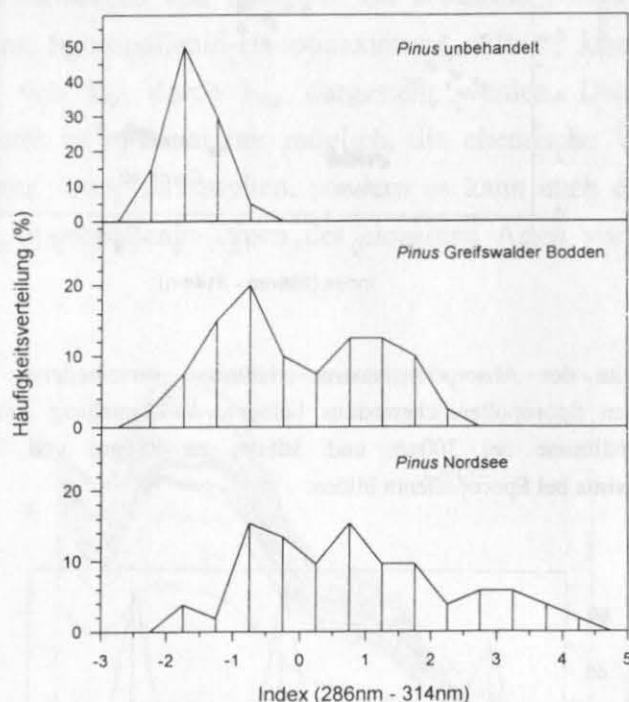


Abb. 11: Häufigkeitsverteilung der Absorptionsmaximaverhältnisse (Index 286-314nm) von *Pinus*-Pollen aus unterschiedlichen Faziesbereichen. Als Ausgangspunkt für die Beurteilung der chemischen Veränderung des Sporopollenins im Sediment dient die Verteilung von unverändertem *Pinus*-Sporopollenin mit einem Hauptindexwert von -1,5. Die Verteilung der Indizes der *Pinus*-Pollen aus einer Oberflächenprobe aus dem Greifswalder Bodden zeigt zwei Indexmaxima bei -1 und 1,5, die als Anteil der autochthonen (paraautochthonen) Pollen (Indexwert -1) und durch Bioturbation umgelagerte Pollen (Indexwert 1,5) betrachtet werden können. Die Indexwerte aus einer Oberflächenprobe aus der Nordsee dagegen zeigen keine eindeutigen Indexmaxima, was durch die gleichmäßige Verteilung der Herkunftsgebiete/Umlagerung erklärt werden kann.

Beispiel für die Variationsbreite des Sporopollenins innerhalb eines Taxons und einer Probe ist die Häufigkeitsverteilung von *Pinus*-Pollen in einer Oberflächenprobe aus dem Greifswalder Bodden (westliche Ostsee), die eine klare bimodale Verteilung zeigt (Abb. 11). Dies kann in einer ersten Interpretation dadurch erklärt werden, daß die Population mit den kleineren Indexwerten aus "rezenten" Pollen besteht, die geringerem chemischem Streß ausgesetzt waren und dadurch das Sporopollenin nur geringfügig chemisch verändert wurde. Die höheren Indexwerte der zweiten Population, als Anzeiger für stärkere

chemische Veränderung des Sporopollenins, könnten dann bei dieser Interpretation auf Bioturbation zurückgeführt werden, bei der *Pinus*-Pollen durch grabende Organismen aus tieferen, anoxischen Sedimentbereichen an die Sedimentoberfläche gebracht wurden. Nach dem gegenwärtigen Stand der Untersuchungen ist in diesem Fall nicht auszuschließen, daß hier auch ein saisonal differenzierter, mikrobieller Abbau des Sporopollenins vorliegt. Im Gegensatz hierzu zeigen die Indizes in einer Oberflächenprobe aus der Nordsee im Ausstrombereich der Elbe eine "diffuse" Verteilung. Dies ist darauf zurückzuführen, daß die *Pinus*-Pollen überwiegend durch die Elbe eingetragen werden und aus einem großen Einzugsgebiet mit wechselnder Erosion und Faziesbereichen mit unterschiedlichen chemischen Einflüssen stammen (Abb. 11).

Eine detaillierte Untersuchung der chemischen Veränderung der Biopolymere bei einzelnen Individuen kann mit der Rekonstruktion des Absorptionsspektrums anhand von Gauß-Kurven durchgeführt werden (Kap. 2.3.; Abb. 3). Als ein wesentlich schnelleres Analyseverfahren und somit auch für eine große Anzahl von Spektren geeignet erwies sich die Berechnung der Spektrendifferenz zwischen einem Ausgangs- bzw. Standardspektrum und dem Spektrum des zu untersuchenden Objekts. Das Standardspektrum wird hierbei als Durchschnittsspektrum aus einer größeren Anzahl von einzelnen Absorptionsspektren chemisch unveränderter rezenter Individuen gemessen. Aufgrund der Variationsbreite der Biopolymere selbst innerhalb einer Organismengruppe ist dieser Standard für jede Art gesondert zu berechnen. Durch Division des Standards durch das Absorptionsspektrum des zu untersuchenden Objekts erhält man das Differenzspektrum, anhand dessen die chemischen Veränderungen detailliert untersucht werden können. So zeigen sich zum Beispiel beim Vergleich der Absorptionsspektren von chemisch unveränderten *Pinus*-Pollen und *Pinus*-Pollen, die mit Salpetersäure behandelt wurden, Überschneidungsbereiche, bei denen einmal die Absorptionsintensität des unveränderten Pollens höher ist als die des chemisch veränderten und umgekehrt (Abb. 12). In der Absorptionsdifferenz-Kurve wird der Bereich, in dem der Standard eine höhere Absorptionsintensität besitzt, mit höheren Absorptionsdifferenz-Werten (>1) dargestellt, während die Bereiche, in denen der veränderte Pollen bzw. dessen Sporopollenin höhere Absorptionsintensitäten zeigt, geringere Absorptionsdifferenz-Werte (<1) besitzen. Die Veränderungen des *Pinus*-Pollens durch die Einwirkung der Salpetersäure im Beispiel der Abbildung 14 können dahingehend interpretiert werden, daß das ursprüngliche konjugierende System des Sporopollenins zum Teil verkürzt (Abnahme der Intensität zwischen 285nm und 340nm und Zunahme zwischen 240nm und 285nm), zum Teil aber auch erweitert wird (Zunahme der Intensität zwischen 340nm und 390nm), wobei die Erweiterung auf den Einbau der Nitratgruppe aus der Salpetersäure zurückzuführen ist (vergl. Kap. 5.2).

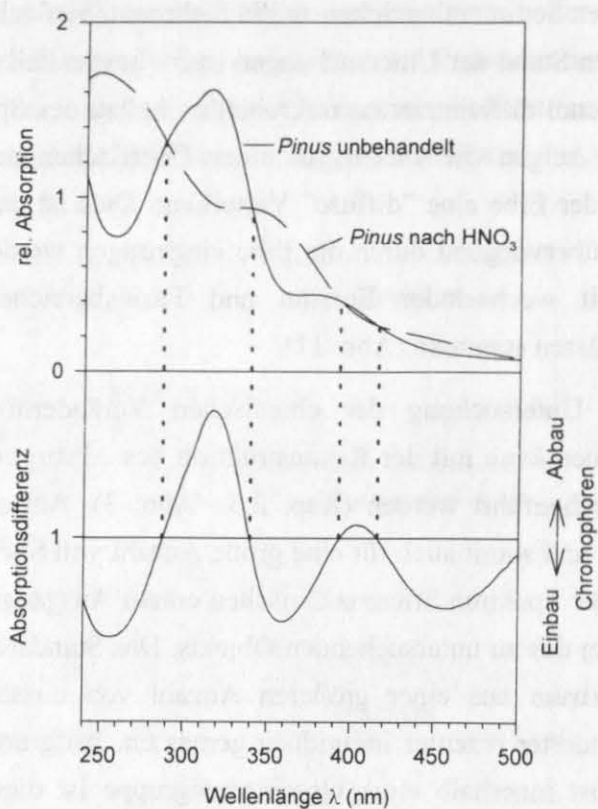


Abb. 12: Absorptionsdifferenzspektrum eines unbehandelten und eines mit Salpetersäure behandelten *Pinus*-Pollens. Durch Quotientenbildung zwischen dem Absorptionsspektrum des unbehandelten und des veränderten *Pinus*-Pollens kann die spektrale Differenz berechnet werden, anhand derer die Abweichungsmaxima der Absorptionsspektren bestimmt werden können.

4. Biologische Zuordnung der gerüstbildenden Biopolymere

4.1. Lipide

Zu den Lipiden gehören strukturell sehr unterschiedliche Stoffe, die aufgrund ihrer Lösungseigenschaften zusammengefaßt werden. Sie sind in Wasser unlöslich, können aber mit verschiedenen organischen Lösungsmitteln aus tierischem und pflanzlichem Gewebe extrahiert werden. Zu den Lipiden zählen die eigentlichen Fette und fettähnlichen Stoffe (Wachse, Harze, Kautschuk etc.). In der Literatur werden die Lipide teilweise aufgrund ihres chemischen Aufbaus (Ester aus dem dreiwertigen Alkohol Glycerin und Fettsäuren) als Fette und Öle von den Lipoiden als fett- oder wachsähnliche Substanzen (Wachse, Karotinoide, Steroide, usw.) unterschieden. Diese "chemotaxonomische" Differenzierung in Lipide sensu stricto (Glycerinester) und Lipide sensu lato (= Lipide + Lipide s.s.) wird in der organischen Geochemie und in der Biochemie meist vernachlässigt, da bei diesen Disziplinen überwiegend die Eigenschaften der Substanzen im Vordergrund stehen (z.B. Tissot & Welte, 1984, pp. 34-43; Tyson, 1995, p. 8).

Die gerüstbildenden Biopolymere (Mikro- und Makrofossilien) der Gruppe der Lipide sensu lato (Lipide) sind überwiegend in den Abschlußgeweben und den Oberflächen von Pflanzen lokalisiert. Bei verschiedenen Algen können die Lipide, die als Sporopollenin, "sporopolleninähnliche Substanz" oder Algaenan beschrieben sind, direkt in die Zellwand eingebaut und/oder zum Aufbau von Zystenwänden verwendet werden. Ob auch bei den Protozoen Lipide in Gehäuse und Zysten eingebaut sind, ist noch ungeklärt, da bisher keine chemischen Analysen dieser Gruppen (Thekamöben, Foraminiferen, Ciliaten) vorliegen.

4.1.1. Wachse

Wachse sind tierische und pflanzliche Produkte, die den Fetten ähnlich sind. Wachse im engeren Sinne bestehen hauptsächlich aus Estern höherer einbasiger Karbonsäuren mit höheren einwertigen Alkoholen und enthalten außerdem noch freie, langkettige aliphatische Säuren, Ketone, Alkohole und aliphatische Kohlenwasserstoffe. Die Klassifikation der Wachse erfolgt im wesentlichen nach ihrer natürlichen Herkunft. Sie können, abgesehen von den synthetischen Produkten, in drei Gruppen eingeteilt werden.

1.) Pflanzliche Wachse

Sie befinden sich überwiegend auf der Pflanzenoberfläche (Epikutikularwachse), kommen aber auch als Intrakutikularwachse in der Kutikula vor und dienen vor allem dem Verdunstungsschutz und in geringerem Umfang auch als Schutz vor Pilzen (Baker, 1982; Euteneuer-Macher, 1990; Kolattukudy & Espelie, 1985; u.a.). Als Hauptbestandteil wird eine Mischung aus aliphatischen, langkettigen Paraffinen, primären und sekundären

Alkoholen, Fettsäuren, Ketonen und Estern mit Kohlenstoffzahlen von C_{10} bis C_{72} beschrieben, deren Zusammensetzung nicht nur von der genetischen Determination des jeweiligen Taxons abhängig ist, sondern auch vom Ontogenesestadium und von Umwelteinflüssen (Baker, 1982; Bianchi, 1987; Euteneuer-Macher, 1990; Kolattukudy, 1970; u.a.)

2.) Tierische Wachse

Hierzu zählen z.B. Bienenwachs, das aus einem Ester-Gemisch (Myricin) aus C_{16} - bis C_{36} -Säuren und C_{24} - bis C_{36} -Alkoholen besteht und in den Wachsdrüsen der Honigbiene gebildet wird, oder der Walrat, der überwiegend aus Estern des Cetylalkohols mit langkettigen Fettsäuren besteht und aus dem "Kopföl" des Pottwals durch Abpressen des flüssigen Anteils gewonnen wird.

3.) Fossile Wachse

Erdwachs oder Erdtalg bildet über die Zwischenstufe des Asphalts den festen Rückstand des Erdöls und besteht überwiegend aus festen Alkanen (Paraffinen) und kann deshalb nicht zu den Wachsen im engeren Sinne (Wachsester) gezählt werden.

Montanwachs ist ein durch Extraktion mit organischen Lösungsmitteln aus Torfen und Braunkohlen gewonnenes Wachs, das überwiegend aus Pflanzenwachsen besteht.

Fossile Epikutikularwachse können in der organischen Fraktion von Sedimenten nachgewiesen (Logan & Eglinton, 1994; Robinson et al., 1987) und unter besonders günstigen Erhaltungsbedingungen sogar noch in ihrer ursprünglichen Lage auf Blattoberflächen gefunden werden (Logan et al., 1995).

4.1.2. Cutin und Cutan

Cutin wird als Abschlußschicht (Kutikula) auf den epidermalen Zellen abgelagert und ist häufig mit Wachsen und Polysacchariden vergesellschaftet (Kolattukudy & Espelie, 1985; Martin & Juniper, 1970; Riederer, 1991; u.a.). Es bedeckt praktisch alle Bereiche der Pflanzenoberfläche, an der kein sekundäres Dickenwachstum stattfindet (Blätter, Früchte, Stengel), und tritt auch bei inneren Gewebeteilen wie zum Beispiel den inneren Samenhüllen und den Saftsäcken der Zitrusfrüchte auf (Espelie et al., 1980).

Cutin besteht aus einem Polyester, der überwiegend aus Monomeren mit 16 oder 18 Kohlenstoffatomen zusammengesetzt ist. Die Hauptkomponenten der C_{16} -Familie sind Hexadekansäure (Palmitinsäure), Hydroxy- und Dihydroxyhexadekansäure und der C_{18} -Familie Oktadekansäure (Stearinsäure), Hydroxy- und Trihydroxyoktansäure sowie Hydroxy-9,10 Epoxyoktansäure (Caldicott & Eglinton, 1976; Holloway, 1982a; b; Kolattukudy et al., 1973; u.a.).

Nip et al. (1986) und andere Autoren (De Leeuw & Largeau, 1993; Tegelaar et al., 1989) beschreiben außer Cutin in der Kutikula weitere aliphatische Kohlenwasserstoffe vom Polymethylen-Typ (Alkene und Alkadiene) mit einer Kettenlänge von C_7 bis C_{35} , die sie als Cutan bezeichnen. Bisherige Untersuchungen lassen vermuten, daß es sich bei Cutan um Alkane, Alkene und Alkadiene handelt, die kovalent an Polysaccharide (Cellulose, Hemicellulosen) gebunden sind. Dagegen besteht Cutan nach den Untersuchungen von McKinney et al. (1996) aus langen Alkylketten, die kovalent über Esterbrücken an ein aromatisches Grundgerüst gebunden sind. Ein aromatisches Grundgerüst wurde auch von Kögel-Knabner et al. (1994) im Cutan nachgewiesen, das sie als eine Lignin-ähnliche Substanz beschreiben.

Nicht auszuschließen ist aber auch, daß es sich bei Cutan zumindest teilweise um nicht vollständig gelöste Intrakutikularwachse handelt, worauf bereits Holloway (1974; 1982a; b) hinweist.

Eine Übersicht über die selektive Verteilung von Cutin und Cutan in verschiedenen rezenten und fossilen Kutikulen von De Leeuw & Largeau (1993) ergibt, daß bei rezenten Gymnospermen und monocotyledonen Angiospermen eine Mischung von Cutin und Cutan vorliegt. Bei rezenten dicotyledonen Angiospermen kann die Kutikula bei bestimmten Arten nur aus Cutin wie zum Beispiel bei *Solanum lycopersicum* (= *Lycopersicon esculentum*) und bei *Citrus limon*, oder nur aus Cutan (*Beta vulgaris*) bestehen. Bei fossilen Kutikulen liegt nach De Leeuw & Largeau (1993) überwiegend Cutan vor, das aber auf den selektiven Abbau von Cutin zurückzuführen ist.

4.1.3. Suberin

Suberin wird in Form zahlreicher dünner Lamellen in den Zellen des Phellems bzw. Korkgewebes im Periderm eingelagert und hat bei Pflanzen mit sekundärem Dickenwachstum eine ähnliche Funktion wie Cutin. Suberinisierte Peridermlagen werden auch in anderen Bereichen der Pflanze wie z. B. in den Wurzeln, im inneren Samenmantel von *Citrus* oder in den Scheidewänden der Leitbündel bei Gräsern als Schutzlagen eingebaut (Botha et al., 1982; Espelie et al., 1980; Peterson et al., 1982; u.a.).

Die chemische Zusammensetzung und der Bau von Suberin ist noch nicht vollständig bekannt und besteht nach den derzeitigen Modellen aus aliphatischen Polyestern, die kovalent an aromatische Bereiche gebunden sind. Die aromatischen Bereiche ihrerseits sind wiederum kovalent an die Zellwand gebunden (Cottle & Kolattukudy, 1982; Kolattukudy, 1981; Kolattukudy & Espelie, 1985). Die aliphatische Fraktion besteht zu 50-90% aus Hydroxycarbonsäuren (C_{16} - C_{28}) und Dicarboxylsäuren (C_{16} - C_{26}), die aromatische überwiegend aus Hydroxybenzaldehyd und Vanilin (Cottle & Kolattukudy, 1982;

Kolattukudy & Espelie, 1985; Pearce & Rutherford, 1981). Kolattukudy & Espelie (1985) weisen darauf hin, daß die aromatische Fraktion der von Lignin ähnlich ist, bei der lediglich die Dominanz von Vanilin durch Syringaldehyd ersetzt wird (vergl.: Kap. 4.2.).

4.1.4. Algaenan, Botryococcene und "Algen-Sporopollenin"

Ähnlichkeit im chemischen Verhalten der Wandbaustanz fossiler Pollen und Dinoflagellatenzysten, verschiedener Chlorococcalalgen, Tasmaniten und der kolonialen Alge *Gloeocapsomorpha* war der Anlaß, auch Algen-Biopolymere als Sporopollenin zu bezeichnen (z.B. Atkinson et al., 1972; Brooks, 1971; Delwiche et al., 1989; Eisenack, 1963; 1966; Good & Chapman, 1978). Nicht einbezogen ist hierbei die "Transformation" der Sporen des Bärlapps (*Lycopodium clavatum*) zu den marinen Algen von Bestougeff et al. (1985). Als „chemisches Kriterium“ wurde meist die Resistenz der Algen-Biopolymere gegen Acetolyse angeführt. In verschiedenen Arbeiten erfolgten auch FTIR-Spektrenvergleiche zwischen den Algen-Biopolymeren und acetolysierten Sporen und Pollen und mit "synthetischem Sporopollenin" (polymere β -Karotine; Shaw, 1970, 1971) weshalb die Algen-Biopolymere aufgrund der Ähnlichkeit als Sporopollenin bezeichnet werden (Aken & Pienaar, 1985; Delwiche et al., 1989; De Vries et al., 1983; Geisert et al., 1987; Good & Chapman, 1978). Untermuert wurde die "Karotin-Biosynthese-Theorie" für Algen-Biopolymere vor allem durch die Arbeit von Atkinson et al. (1972), in der nachgewiesen wurde, daß nur Algen, die sekundäre Karotinoide synthetisieren, acetolyseresistente bzw. fossilisierbare Zellwände bilden (Burczyk & Hesse, 1981; Deason et al., 1977; Kessler, 1984). Die Problematik der Differenzierung von "Algen"- und "Sporen-/Pollen-Sporopollenin" zeigt sich in der Arbeit von Guilford et al. (1988) durch den Nachweis, daß der Chemismus der Zellwandbiopolymere von Algen dem des Pollen-Sporopollenins ähnlicher sein kann als der des Sporopollenin innerhalb der Sporen und Pollen.

Um die Biopolymere der terrestrischen Sporen und Pollen von denen der aquatischen Algen zu unterscheiden, wurde von Tegelar et al. (1989) der Begriff Algaenan als unspezifische Bezeichnung für resistente Biopolymere in Algenzellwänden eingeführt. Bisherige chemische Untersuchungen der Algaenane, die überwiegend an der Grünalge *Botryococcus braunii* durchgeführt wurden, ergaben, daß es sich bei (*Botryococcus*-) Algaenan bzw. bei PRB (Polymère Résistant de *Botryococcus*; Berkaloﬀ et al., 1983) um eine Reihe von Biopolymeren mit unterschiedlicher chemischer Zusammensetzung handelt. Braun et al. (1969) beschreiben drei physiologische Stadien der Alge mit unterschiedlicher chemischer Struktur der Koloniematrix: 1.) Ein grünes, aktives und schnellwachsendes Stadium mit aliphatischen, langen und unverzweigten Kohlenwasserstoffketten in der Koloniematrix; 2.) ein braunes bis rot-/orangefarbiges Ruhestadium mit

"Maulbeerhabitus" und hoher Konzentration von ungesättigten, verzweigten Kohlenwasserstoffen, und 3.) ein Ruhestadium mit großen, dunkelgrünen Zellen mit wenig Kohlenwasserstoffen, die durch das Umsetzen von braunen Ruhestadien in frische Nährlösung im Labor induziert wurden.

Die Differenzierung in aktives Stadium und Ruhestadium anhand der Biopolymere wurde von späteren Autoren bestätigt, und die ungesättigten, verzweigten Kohlenwasserstoffe des Ruhestadiums (Maulbeerstadium), die als Isoprenoide identifiziert wurden, als *Botryococcene* bezeichnet (Behar et al. 1995; De Leeuw & Largeau, 1993; Derenne et al., 1988; Gatellier et al., 1993; Maxwell et al., 1968; Wolf et al., 1985; Wolf & Cox, 1981; u.a.). Weitere Substanzgruppen, die sowohl bei rezentem und fossilem *Botryococcus* als auch bei *Gloeocapsomorpha* nachgewiesen wurden, sind verschiedene Alkylcyclohexane und Alkylbenzole, die auch suberin-/cutinähnliche Substanzen als Baustein der Algaenane vermuten lassen (Derenne et al., 1991; Douglas et al., 1991; Hoffmann et al., 1987; Metzger & Largeau, 1993; Stasiuk et al., 1993).

In vereinzeltten Arbeiten über weitere Algen-Biopolymere (Algaenane) konnten außer den bei *Botryococcus* beschriebenen Substanzen noch eine Reihe weiterer Moleküle bzw. Komponenten nachgewiesen werden, wie zum Beispiel Alkylnitrile bei *Scenedesmus quadricauda* und *Chlorella fusca* (Derenne et al., 1992, 1993), cutinähnliche Substanzen bei *Tetraëdron* (Goth et al., 1988), Biopolymere unsicherer terpenoider Zuordnung in *Prototheca wickerhamii* (Puel et al., 1987) oder Lipopolysaccharide bei *Schizothrix* (Chalansonnet et al., 1987).

Zu der immer noch herrschenden Unsicherheit über die Zusammensetzung der Algenzellwände und Zysten kommt hinzu, daß die bisherigen Untersuchungen überwiegend an den Algen *Botryococcus* und *Gloeocapsomorpha* durchgeführt wurden, die aber, abgesehen von den wenigen Ausnahmen, in denen sie gesteinsbildend auftreten (Coorongit, Kukersit), in der Vergesellschaftung organisch-wandiger Mikrofossilien keine oder nur eine untergeordnete Rolle spielen, wobei *Botryococcus* sowohl in der Struktur als auch im Metabolismus und Verhalten keine Parallelen mit einer anderen bekannten Algengruppe besitzt (Belcher, 1968). Das bedeutet aber, daß für den größten Teil der Algenwände und Zysten der chemische Aufbau noch nicht geklärt ist und hier noch ein erheblicher Forschungsbedarf besteht.

4.1.5. Sporopollenin

Zu Beginn des 19. Jahrhunderts erregten die Membranen der Sporen und Pollen wegen ihrer extremen chemischen Widerstandsfähigkeit die Aufmerksamkeit der Chemiker und

Apotheker (z.B. Berzelius, 1837; u.a.²). Bereits zu dieser Zeit wurde aufgrund der unterschiedlichen chemischen Reaktionen der Sporen- und Pollenwände eine klare Trennung zwischen den verschiedenen Biopolymeren Sporin und Pollenin vorgenommen. Erste chemische Analysen zeigten, daß sich das Sporin überwiegend aus wachsähnlichen Substanzen und Benzolderivaten zusammensetzt (Langer, 1889).

Zetsche und Mitarbeiter (1928 bis 1937) nahmen erstmals intensive chemische Untersuchungen an rezenten und fossilen Palynomorphen vor. Anhand zahlreicher Depolymerisationsversuche verglichen sie das chemische Verhalten der Sporenmembran mit dem des Kautschuks und ermittelten ein C:H-Verhältnis, das dem der Terpene entspricht und eine Polyterpenstruktur auch für das Sporin vermuten ließ (Zetzsche & Huggler, 1928). Um verschiedene Taxa miteinander vergleichen zu können, entwickelten sie die C₉₀-Summenformel, die sowohl für rezentes als auch für fossiles Material angewendet wurde (Tab. 3).

Für die Wandbaustanz der Sporen und Pollen wählten sie zusammenfassend aus den bis dahin gebräuchlichen Begriffen Sporin und Pollenin die Kombination Sporopollenin (Zetzsche & Vicari, 1931a; b). Die ersten chemischen Untersuchungen an fossilem Sporopollenin unternahmen Zetzsche et al. (1931) an Braunkohlen des Moskauer Beckens und an Tasmanit, wobei die Prasinophyceae *Tasmanites*, die in diesen Sedimenten gesteinsbildend auftritt, zu dieser Zeit noch als Megaspore betrachtet wurde. In späteren Arbeiten wurde die Wandbaustanz der Tasmaniten nicht zuletzt aufgrund chemischer Unterschiede als Tasmanin klar von Sporopollenin getrennt. (Zetzsche et al., 1937).

<i>Lycopodium clavatum</i>	C ₉₀ H ₁₄₂ O ₂₇ bzw. C ₉₀ H ₁₂₇ O ₁₂ (OH) ₁₅
<i>Pinus silvestris</i>	C ₉₀ H ₁₄₄ O ₂₄ bzw. C ₉₀ H ₁₃₁ O ₁₁ (OH) ₁₃
Moskauer Braunkohle (Karbon)	C ₉₀ H ₁₂₀ O ₂₁ bzw. C ₉₀ H ₁₁₁ O ₁₂ (OH) ₉
Tasmanin (Perm)	C ₉₀ H ₁₃₆ O ₁₇ bzw. C ₉₀ H ₁₃₄ O ₁₅ (OH) ₂

Tab. 3: C₉₀-Summenformel für Sporopollenin rezenter und fossiler Sporen und Pollen nach Zetzsche & Vicari (1931a,b) und Zetzsche et al. (1931).

Spätere Untersuchungen wie zum Beispiel von Shaw & Yeadon (1964; 1966) oder Heslop-Harrison (1968) an verschiedenen Sporen und Pollen ergaben, daß das Sporopollenin vorwiegend aus unverzweigten Mono- und Dikarbonsäuren aufgebaut ist, und daß zusätzlich auch eine "Lignin-Fraktion" bei den verschiedenen Sporopolleninen vorkommt, wodurch die ersten Analysen von Langer (1889) bestätigt wurden.

² In der Literatur werden weitere Autoren aufgeführt, deren Schriften aber bis heute noch nicht eingesehen werden konnten: z.B. Braconnot, H., 1829; Buchholz, C.F., 1807; John, 1814.

Zu einem ähnlichen Ergebnis kamen zum Beispiel auch Frey-Wyssling & Mühlethaler (1965), Ibrahim (1965) und Kolattukudy (1980), die aber das Sporopollenin als polymere Hydrocarbonsäuren interpretierten und eine chemische Affinität zu Cutin und Suberin vermuteten, wie sie auch bereits von Czapek (1925) angenommen wurde. Der "Suberin-Theorie" widerspricht jedoch die Arbeit von Shaw & Yeadon (1964), da die von ihnen vorgenommenen Vergleichsmessungen von Kork und Pollen zeigten, daß die für Ester-Gruppen typische Absorption bei 1740cm^{-1} des IR-Absorptionsspektren bei Pollen fehlt, dagegen die für aromatische Ringe typische Absorption im Bereich von 1500cm^{-1} und 1600cm^{-1} , wie sie auch in Lignin gefunden wird, vorhanden ist (vergl. Abb. 16 und 18).

Einen neuen Ansatz in der Sporopolleninchemie verfolgten Brooks & Shaw (1968a;b), indem sie die zeitliche Abfolge der Synthese spezifischer chemischer Substanzen mit der Pollenontogenie parallelisierten. Ihre Untersuchungen ergaben, daß die Entwicklung der Pollen direkt mit dem Carotinoidgehalt der Anthere korreliert werden kann, und sie vermuteten daraufhin, daß Karotinoide der Grundbaustein der Pollenwandsubstanz sind. Dies wurde dann durch vergleichende Analysen mit verschiedenen Methoden (IR-Spektroskopie, Pyrolyse, Ozonisierung etc.) an rezenten und fossilen Pollen sowie Pilzsporen und verschiedenen Algen mit natürlichen und synthetischen Karotinoiden bestätigt. Da sowohl Sporopollenin aus verschiedenen Organismengruppen als auch polymere Karotinoide ähnliche und identische Spaltprodukte bei der thermischen und chemischen Depolymerisierung lieferten, wurde die "Lignin-Theorie" als substanzielles Element des Sporopollenin ausgeschlossen (z.B.: Achari et al., 1973; Brooks, 1971; Brooks & Shaw, 1972; Shaw, 1971; 1970).

Neue Erkenntnisse in den Sporopolleninanalysen gewannen Prahl et al. (1985; 1986) durch dem Einsatz von Biosynthesehemmern, mit denen gezielt die Biosynthese bestimmter Substanzen in lebenden Pflanzen verhindert werden kann. Die Versuche mit Karotin-Inhibitoren belegten eindeutig, daß an der Biosynthese von Pollen-Sporopollenin kein Karotin beteiligt ist, da die Anwendung von Karotin-Inhibitoren keinerlei Einfluß auf die Ontogenie der untersuchten Pollen bzw. auf die Bildung des Sporopollenins hatte. Deutliche Veränderungen in der Sporopolleninchemie konnten durch die Versuche mit einem Inhibitor, der die Synthese von Fettsäuren mit mehr als 18 C-Atomen unterbindet, von Wilmesmeier & Wiermann (1995) nachgewiesen werden. Anhand des FTIR-Spektrums zeigte sich, daß die Anzahl der Ether-/Ester-Gruppen in den Pollen der behandelten Pflanze deutlich höher war als in den Vergleichspollen unbehandelter Pflanzen. Dies kann dahingehend interpretiert werden, daß durch die verkürzten Fettsäuren eine erhöhte Anzahl von Ether oder Esterverbindungen notwendig ist, um die verkürzte Kettenlänge der Aliphaten zu kompensieren. Diese Untersuchungen zeigen auch, daß die Sporopolleninsynthese auf einem sehr flexiblen System beruht und lassen vermuten, daß

auch Umwelteinflüsse die Struktur des Sporopollenins verschiedener Pollen-Taxa beeinflussen können.

Nach dem derzeitigen Stand der Sporopolleninforschung kann davon ausgegangen werden, daß es sich bei Sporopollenin um eine variable Substanzgruppe mit vorwiegend langkettigen, unverzweigten und/oder verzweigten aliphatischen Komponenten mit unterschiedlichen Anteilen an phenolischen Komponenten handelt. Diese werden analog zur Biosynthese von Lignin und Suberin über Phenylalanin in das Polymer eingebaut und weisen ausgeprägte taxonspezifische und ontogenetisch bedingte Variationen auf (Gubatz & Wiermann 1993; 1992; Guilford et al., 1988; Kawase & Takahashi, 1995; Meuter-Gerhards et al., 1995; Schulze Osthoff & Wiermann, 1987; Wilmesmeier et al., 1993). Ob und inwieweit auch Karotinoide in das Sporopollenin eingebaut sind, ist immer noch ungeklärt und wird auch in der neueren Literatur erneut diskutiert (Shaw & Apperley, 1996).

4.1.6. Isoprenoide

Die beiden Naturstoffklassen Terpene und Steroide zeigen große Ähnlichkeit in ihrem strukturellen Aufbau und haben bei der Biosynthese jeweils den gleichen Ausgangsstoff, die (R)-Mevalonsäure, die auch als Isoprenbaustein bezeichnet wird. Deshalb werden beide Stoffklassen allgemein als Isoprenoide zusammengefaßt. Je nach Anzahl der Isoprenbausteine unterscheidet man zwischen Sesquiterpenen (1½fache Terpene), Di-, Tri-, Tetra-terpenen (z.B. ätherische Öle, Karotinoide) und dem hochmolekularen Polyterpenen (Polyprene), zu denen zum Beispiel der Naturkautschuk und das Guttapercha des Milchsaftes verschiedener Pflanzen zählen.

Im Mikro- und Makrofossilbereich kommen Terpene vor allem als Bernstein und Kautschuk vor, wie zum Beispiel das "Affenhaar" aus eozänen Braunkohlen, das aus dem erhärteten Milchsaft von Milchsaftschläuchen der Rinde verschiedener Pflanzen besteht (Mägdefrau, 1968), die aber im eigentlichen Sinne nicht als gerüstbildende Biopolymere bezeichnet werden können.

Ob und inwieweit Terpene am Aufbau gerüstbildender Biopolymere wie zum Beispiel Sporopollenin oder Algaenan beteiligt sind, ist bis heute noch ungeklärt.

4.2. Polymere Aromate (Lignin)

Lignin kommt in allen höheren Landpflanzen, einschließlich der Farne, vor. Es wird, wie der Name andeutet (lat. lignum=Holz), bei der Verholzung im pflanzlichen Gewebe in Interzellularspalten und interfibrillären Zwischenräumen gebildet. Lignin ist neben der

Cellulose das häufigste Biopolymer der Pflanzen und stellt bei Holz bis zu ca. 30% der Biomasse. Lignin bildet zusammen mit Cellulose einen "Verbundwerkstoff", der mit Stahlbeton verglichen werden kann. Die zugfesten Cellulosefibrillen entsprechen dem Stahlgewebe und das Lignin der druckfesten Matrix, dem Beton, was die enorme Belastbarkeit und Stabilität von Pflanzenstengeln bzw. Stämmen bedingt, wie zum Beispiel der weit über 100 m hohen Sequoien oder des Bambus, der trotz seines relativ geringen Stammdurchmessers bis zu 40 m hoch werden kann.

Lignin besteht im wesentlichen aus dreidimensional vernetzten Mischpolymerisaten von Phenylpropanderivaten, die kovalent mit Cellulose und Hemicellulosen verbunden sind. Entsprechend der systematischen Zugehörigkeit der verschiedenen Pflanzen unterscheiden sich die Monomere des Polymerisats sowie die quantitativen Anteile des Lignins, deren Ausgangssubstanz bei der Biosynthese jeweils die Aminosäure L-Phenylalanin ist. So besteht z.B. der Grundkörper bei Fichtenholz nahezu ausschließlich aus Coniferylalkohol mit einem Ligninanteil von rund 28%, während bei Angiospermen auch Sinapin- und Cumarylalkohol als Grundkörper auftreten können. Der Ligninanteil bei Baumarten der gemäßigten Breiten beträgt ca 23%, in einigen tropischen Arten (z.B. Teakholz) wurden auch Werte bis über 30% ermittelt (Bauch, pers. com.; Bolwell, 1988; Ebert, 1993; Faulon et al., 1994; Higuchi, 1985 u.a.).

Lignin ist aufgrund der schwer hydrolisierbaren Etherverbindungen zwischen den einzelnen Monomeren ein sehr stabiles Biopolymer. Es kann in der Natur nur von wenigen Pilzgruppen (Weißfäulepilze) abgebaut werden. Die Abbauprodukte des Lignins bilden zusammen mit weiteren Pflanzenstoffen (Cellulose, Lipide, Proteine etc.) die Humusstoffe, die den Hauptteil des sedimentären organischen Materials bilden und entsprechend ihrer Herkunft von terrestrischem Pflanzenmaterial oder marinen Algen höhere oder niedrigere Anteile an Aromaten enthalten (Chen & Chang, 1985; De Leeuw & Largeau, 1993; Ebert, 1993; Goñi et al., 1993; Hollerbach, 1985; Tyson, 1995; u.a.).

Bei der Fossilisation bzw. Vertorfung und Inkohlung des Lignins wird die chemische Struktur in Abhängigkeit von der Sedimentchemie und der Herkunft des Lignins von Gymnospermen- oder Angiospermenholz (Nadel- bzw. Laubholz) spezifisch verändert (Bates & Hatcher, 1992; Hatcher et al., 1989; Stout et al., 1988; Stout & Spackman, 1989; u.a.). Diese faziesspezifischen Veränderungen im Lignin sind selbst in Extremfällen konstant, was Bates & Hatcher (1989) an einem Querprofil durch einen fossilen Araucariaceenstamm mit 3 m Durchmesser zeigen konnten. Folglich kann die Ligninchemie als sehr zuverlässiger Indikator für biogeochemische Faziesanalyse angesehen werden.

4.3. Polysaccharide

Polysaccharide, wie zum Beispiel Cellulose, Hemicellulosen und Stärke, kommen vorzugsweise im Pflanzenreich vor. Die Bedeutung der Polysaccharide für den Kohlenstoffkreislauf zeigt sich vor allem an der Cellulose, die ca. 40% des in Pflanzen und Algen enthaltenen Kohlenstoffes bindet. Pflanzen wiederum enthalten nahezu 99% des in der Biosphäre enthaltenen Kohlenstoffes. Polysaccharide sind nicht nur auf das Pflanzenreich beschränkt, sondern in Form von Aminoglucanen oder Glykoproteinen auch im Tierreich und bei den Prokaryonten vorhanden. Beispiel hierfür ist das Cellulosederivat Chitin, das den wesentlichen Bestandteil des Außenskeletts der Arthropoden und Insekten bildet.

Der überwiegende Teil der Polysaccharide besitzt ein sehr geringes Fossilisationspotential oder ist fossil nicht erhaltungsfähig. Dies gilt besonders für die Speicherpolysaccharide wie Stärke, Glykogene, Fructane, Dextrane und Laminarane, die wasserlöslich sind und besonders leicht hydrolisiert und enzymatisch gespalten werden (Ittekkot et al., 1982; Klok et al., 1984; De Leeuw & Largeau, 1993). Ähnlich den Hemicellulosen der höheren Pflanzen gibt es bei den Algen eine Reihe von Polysacchariden (Alginsäuren, Agar-Agar, Carrageenan), die insbesondere in den Zellwänden als Stützsubstanz sowie in den Interzellularsubstanzen lokalisiert sind. Eine weitere Gruppe von Polysacchariden mit unklarem Fossilisationsverhalten sind die exozellulären Polysaccharide der Bakterien und Pilze, die sich zwischen der cytoplasmatischen und der äußeren Zellmembran befinden (Ebert, 1993).

Fossile Polysaccharide, die sich aufgrund der paläontologischen und biologischen Zuordnung eindeutig bestimmen lassen, sind die Cellulose der Zellwände von Pflanzen (vorwiegend Holzfragmente), das Chitin der Exoskelette von Arthropoden und Insekten sowie der Zellwände von Pilzen und Cyanophyceen. Hinzu kommt eine Reihe von fossilen und rezenten Formen unsicherer Zuordnung, die meist als chitinös beschrieben sind, von verschiedenen Autoren aber auch zu den Skleroproteinen oder den Mucoproteinen/-polysacchariden gestellt werden. Hierzu zählen zum Beispiel die Chitinozoen, Graptolithen, Scolcodonten, Foraminiferentapeten, Thecamöben, Tintinniden-Loricae und Zysten (vergl. Kap. 6.5 bis 6.6.).

4.3.1. Cellulose

Cellulose bildet als Gerüstsubstanz den Hauptbestandteil der pflanzlichen Zellwände. Pflanzenfasern, wie Baumwolle, Jute, Flachs und Hanf bestehen nahezu aus reiner Cellulose. Das Holz der Gymnospermen und Angiospermen dagegen bildet einen natürlichen Verbundwerkstoff und besteht zu 40-50% aus Cellulose neben je 25-30% Hemicellulosen und inkrustierendem Lignin. Entsprechend bedeutend ist auch der Anteil der Cellulose bei der Sedimentation von organischem Kohlenstoff. Trotz des relativ

raschen Abbaus von Cellulose durch Pilze und Bakterien sowohl unter aeroben als auch anaeroben Bedingungen wurde sie chemisch in Sedimenten und Steinkohlen nachgewiesen (Moers et al., 1989; Stach, 1970; Stout et al., 1988). Der direkte Nachweis von Cellulose ist auch in palynologischen Präparaten aus mesozoischen Proben durch differenzierende Kombinationsfärbung z.B. mit Malachitgrün® oder Hellgrün SF® und Safranin O® möglich (Brenner, unpubl.).

Cellulose besteht ebenso wie die wasserlösliche Stärke aus einem unverzweigten 1,4-Glucan. In der Cellulose sind, im Gegensatz zu der Stärke, die Glucosemoleküle $\beta(1,4)$ -glucosidisch verknüpft. Dadurch wird die Ausbildung von intrachenaren Wasserstoffbrücken ermöglicht, worauf sich die unterschiedlichen physikalischen und chemischen Eigenschaften zurückführen lassen. Chemisch handelt es sich bei der in der Natur vorkommenden Cellulose um ein unverzweigtes Poly-(β -1,4-Glucopyranosyl-Glucopyranosid), das man auch als ein syndiotaktisches Polyacetal der Glucose auffassen kann.

Natürliche Cellulose ist partiell kristallin und hat gewöhnlich einen Kristallisationsanteil von ca. 60%. Zur Unterscheidung von weiteren Cellulosemodifikationen wird sie als Cellulose I bezeichnet. Aus dem Röntgendiagramm ergibt sich, daß sie monoklin sphenoidisch kristallisiert (Marchessault & Sarko, 1967). Mit Röntgenuntersuchungen können noch mindestens fünf weitere Modifikationen der Kristallstruktur nachgewiesen werden, die bei der Umwandlung (Mercerisierung) von Cellulose I in Cellulose II auftreten (Ebert, 1993). Ob derartige Modifikationen der Kristallstruktur der Cellulose auch bei der Fossilisation vorkommen, ist bisher noch nicht untersucht worden. Denkbar ist aber, daß unterschiedliche chemische Einflüsse auf die Cellulose in den Sedimenten Änderungen in der Kristallstruktur verursachen, die zu einer selektiven Erhaltung in verschiedenen Faziesbereichen führen können.

Weitere Möglichkeiten und Ursachen für die selektive Erhaltung der Cellulose können auch die primären chemischen Unterschiede in Abhängigkeit von der Herkunft sein. So besitzen die aus verschiedenen Pflanzen gewonnenen Cellulosen nicht nur einen signifikant unterschiedlichen Polymerisationsgrad, sondern es werden bei verschiedenen Organismengruppen außer Glucose noch andere Saccharide in das Cellulosemolekül eingebaut. Zum Beispiel besteht die Cellulose der Algengattungen *Valonia* und *Cladophora* aus völlig reiner Glucose, die der Rotalge *Rhodemynia palmata* dagegen zu 50% aus Xylose, die aber im Röntgendiagramm nicht unterschieden werden können. Selbst die Baumwoll-Cellulose, die gewöhnlich als Musterbeispiel reiner Cellulose betrachtet wird, enthält 1,5% Xylose und daneben noch kleinere Mengen Mannose, Galactose und Arabinose (Elias, 1971).

Untersuchungen über das Fossilisationsverhalten der verschiedenen Cellulosemodifikationen unterschiedlicher pflanzlicher Taxa liegen bisher noch nicht vor. Ebenso sind

die Auswirkungen von Umwelt- und Diageneseinflüssen auf das Kristallisationsverhalten und auf die Verknüpfung der Cellulose mit polymeren Aromaten oder Fettsäureestern immer noch unbekannt. Eine künftige Intensivierung der Untersuchungen der Cellulosefossilisation ist nicht nur für taxonomisch-evolutive und faziesorientierte Forschungen von besonderem Interesse, sondern läßt auch für die Papier- und Textilindustrie verwertbare Ergebnisse erwarten. Dies gilt besonders für die chemischen "Stabilisierungsvorgänge" während der Sedimentation und Diagenese, die eine Celluloseerhaltung selbst noch in Steinkohlen ermöglichen.

4.3.2. Chitin

Während bei den Pflanzen Cellulose und bei den Vertebraten Proteine wie Kollagen als strukturbildende Biopolymere dienen, kommt diese Aufgabe bei den Arthropoden dem Chitin zu. Es ist vor allem in dem für Crustaceen und Insekten charakteristischen Exoskelett enthalten. Außerdem findet man Chitin bei den Mollusken und Brachiopoden sowie in den Zellwänden von Pilzen, in den Flagellen verschiedener Algen und in Bakterien. Von der chemischen Struktur her entspricht das Chitin der Cellulose und entsteht, wenn die OH-Gruppe am C2-Glucoserest durch je eine Aminoacetylgruppe ersetzt wird. Chemisch handelt es sich bei Chitin also um ein Poly-(β -1,4-N-acetyl-D)-glucosamin.

Obwohl die Struktur des Chitins derjenigen der Cellulose ähnelt unterscheiden sich die Eigenschaften dieser beiden Polysaccharide, was auf die von den Acetylaminogruppen ausgehenden starken zwischenmolekularen Wechselwirkungen zurückzuführen ist. Chitin zeichnet sich durch seine chemische Stabilität aus und wird nur von wenigen Mikroorganismen, Schimmelpilzen und Schnecken, die Chitinasen produzieren, abgebaut. Darüber hinaus sind Chitinasen auch in höheren Pflanzen wie Weizenkeimen, Tomaten, Sojabohnen u.s.w. enthalten und dienen vermutlich dem Schutz vor pathogenen Pilzen, die häufig chitinreiche Zellwände besitzen (Muzzarelli et al., 1986).

Ähnlich wie bei der Cellulose handelt es sich auch bei Chitin um einen biogenen Verbundwerkstoff, dessen Struktur und somit auch dessen Eigenschaften den jeweiligen Erfordernissen der entsprechenden Organismen in optimaler Weise angepaßt wird. Im allgemeinen liegt ein Chitin-Protein-Komplex vor, der entweder aus Chitinlamellen mit zwischengeschobenen Proteinschichten oder aus Chitinfibrillen besteht, die in eine Proteinmatrix eingebettet sind, vergleichbar mit den Keratinmikrofibrillen im Paracortex der Wolle (Ebert, 1993; Ramachandran, 1967). Im Carapax verschiedener Crustaceen wie zum Beispiel Hummern und Krabben ist das Chitin mit bis zu 70% Kalziumkarbonat vergesellschaftet.

Außer der variablen Zusammensetzung des Chitin-Proteinkomplexes kommen in der Natur drei verschiedene Modifikationen des Chitins vor, die anhand von Röntgenbeugungs-Untersuchungen nachgewiesen werden können und als α -, β - und γ -Chitin bezeichnet werden (Rudall, 1963; Ebert, 1993). Die drei Modifikationen unterscheiden sich wesentlich in ihren physikalischen und chemischen Eigenschaften sowie in ihrem Fossilisationspotential. Im α -Chitin sind die benachbarten Chitinketten antiparallel angeordnet, wodurch eine mikrofibrilläre Struktur entsteht und, ähnlich wie in der Cellulose in der Hermansschen "bent-conformation", kurze Wasserstoffbrückenbindungen vorliegen (Hermans, 1949). Beim β -Chitin dagegen sind die Chitinketten parallel angeordnet und bilden eine lamellare Struktur aus. Diese kann unter Vergrößerung des Abstandes der Ketten hydratisiert werden bzw. in Wasser aufquellen, was sowohl die chemische als auch die physikalische Resistenz dieser Chitinmodifikation und dementsprechend auch ihr Fossilisationspotential erheblich beeinflusst. Beim γ -Chitin laufen jeweils zwei Ketten parallel und eine antiparallel, wodurch eine Art Mischmodifikation zwischen α - und β -Chitin entsteht (Ebert, 1993).

In der Natur am weitesten verbreitet ist das α -Chitin, das in Arthropoden, Mollusken und Pilzen vorkommt. β -Chitin tritt in den Geißeln der Diatomeen, der inneren Schale der Kalmare, bei verschiedenen Anneliden und in den Wohnröhren der Pogonophoren auf (Blackwell, 1969). Die drei Chitinmodifikationen können als "funktionschemische" Anpassungen an die biologische Funktion der entsprechenden Organismenteile betrachtet werden und in einem Organismus in verschiedenen Bereichen auftreten. So findet man zum Beispiel bei den Kalmaren alle drei Modifikationen in verschiedenen Organen:

α -Chitin, das sich durch seine Härte und chemische Resistenz auszeichnet, in den papageienschnabelartigen Kiefern.

β -Chitin, das eine geringe Bruchdehnung und hohe Ermüdungsfestigkeit besitzt, in dem schwertförmigen Chitinblatt.

γ -Chitin als Zwischenform in den Magenleisten.

4.3.3. Murein

Die Zellwände der Cyanophyceen und der Bakterien bestehen aus Murein, einem alternierenden $\beta(1,4)$ -verknüpften Copolymer von N-Acetyl-D-Glucosamin und N-Acetylmuraminsäure (Abb. 22). Man kann das Murein auch als substituiertes Chitin auffassen, das an der 3-OH-Gruppe jedes übernächsten Restes mit der β -Hydroxgruppe der Milchsäure verethert ist. Diese Ketten sind durch Tetrapeptide miteinander vernetzt (Ebert, 1993). Ein direkter chemischer Nachweis von Murein in Sedimenten ist bisher noch nicht beschrieben (De Leeuw & Largeau, 1993), es kann aber indirekt über das Abbauprodukt Muraminsäure erfaßt werden (Casagrande & Park, 1978).

5. Probenaufbereitung und Präparation

Probenaufbereitung und Präparation sind die Basis für alle palynologischen und organisch-chemischen Untersuchungen. Entsprechend der vielfältigen Fragestellungen (Taxonomie, Biostratigraphie, Faziesanalyse, Reifegradbestimmung, etc.) und der unterschiedlichen Herkunft des Materials (Rezentmaterial, Schlick, Kalk, Sandstein, Torf, Kohle, etc.) wurde eine Reihe verschiedener Verfahren entwickelt, die in den verschiedenen Laboratorien in unterschiedlichen Abwandlungen angewendet werden.

Als palynologisches Standardverfahren für den Gesteinsaufschluß gilt gemeinhin das Lösen der Karbonate mit Salzsäure und der Silikate mit Flußsäure. Je nach Anwender werden hierzu verdünnte oder konzentrierte Säuren verwendet, die zum Teil auch erhitzt werden, um die Lösungszeit zu verkürzen. Außer der direkten Lösung mit Mineralsäuren sind auch Verfahren zur Dispergierung von tonigen Sedimenten zum Beispiel mit Natriumpyrophosphat (Brown, 1960), Wasserstoffperoxid (Leschik, 1956) oder Tensiden (Zingula, 1968) beschrieben, die zudem den Vorteil haben, daß auch die karbonatischen und silikatischen Mikrofossilien erhalten bleiben.

Lösen von amorphem Kerogen und von weniger stabilen Biopolymeren erfolgt im allgemeinen durch die Acetolyse nach Erdtmann (1934, 1960) oder "Salpetersäureoxydation". Diese Prozesse können durch eine anschließende Verseifung mit Natron- oder Kalilauge ergänzt werden (z.B. Brown, 1960; Gray, 1965a; b; Herngreen, 1983; Wood et al., 1996; u.a.).

Die physikalische Trennung der Sedimente zwischen den einzelnen chemischen Aufbereitungsschritten erfolgt im einfachsten Fall durch Dekantieren oder Zentrifugieren. Zur Beschleunigung und Optimierung der Trennung wurden eine Reihe von Verfahren entwickelt, die von der Schwerentrennung mit Schwerelösungen bis hin zu komplexen Siebapparaten in verschiedenen Modifikationen reichen (Felix, 1963; Heunisch & Muntzos, 1990; Kaiser & Ashraf, 1974; Poulsen, et al., 1990; Reissinger, 1939; u.a.).

5.1. Einfluß der Aufbereitungsagenzien auf organisch-wandige Mikrofossilien

Die Veränderungen von Größe, Struktur und Chemismus von fossilen Sporen und Pollen durch die Aufbereitung wurden bereits von Kirchheimer (1933) beschrieben und von späteren Autoren anhand von Versuchsreihen an rezenten Sporen und Pollen bestätigt (z.B. Brenner, 1996; Charman, 1992; Frederiksen, 1978; Kedves, 1985; Reitsma, 1969). Noch einschneidender als die Veränderung durch die Aufbereitungsmethode ist die selektive Lösung der Palynomorphen, die sowohl die biostratigraphische Zuordnung von Sedimenten als auch die Faziesinterpretation erheblich beeinflußt. Daß dieser Prozeß der selektiven Veränderung bzw. Lösung bereits im Sediment beginnt, konnte Havinga (1967; 1984)

durch einen 20jährigen Langzeitversuch mit einer einheitlichen Sporen- und Pollenmischung nachweisen und eine Stabilitätsreihe für Sporen und Pollen aufstellen.

Eine intensive Strukturänderung durch die Aufbereitung bei fossilen Dinoflagellaten beschreibt Schrank (1988). Er konnte zeigen, daß auch taxonomisch signifikante Merkmale wie zum Beispiel die Cavation durch unterschiedliche Aufbereitungsmethoden verändert werden, was zu einer von der Präparationsmethode abhängigen taxonomischen Zuordnung der Zysten führen kann. Arbeiten über die selektive Lösung von Dinoflagellaten durch die Aufbereitungsmethode liegen bisher noch nicht vor, es wird jedoch von verschiedenen Autoren bei der Beschreibung der jeweils verwendeten Aufbereitungsmethode darauf hingewiesen, daß durch heiße Salzsäure, Oxidation und Acetolyse verschiedene Acritarchen und protoperidinioiden Dinoflagellatenzysten gelöst werden (z.B. Biebow, 1996; Dale, 1976; Downie, 1959; Harland, 1981; Marret, 1993).

Die protoperidinioiden Dinoflagellatenzysten können durch ihre braune bis dunkelbraune Farbe ("round browns" und "brown spiny forms") und das Fehlen von Autofluoreszenz von allen anderen Dinoflagellatenzysten-Arten unterschieden werden. Diese "braunen Zysten" stammen ausnahmslos, soweit ihre lebenden vegetativen Stadien bekannt sind, von heterotrophen Dinoflagellatenarten (z.B. Biebow, 1996; Dale, 1996; Mudie & Harland, 1996). Lösungsversuche von protoperidinioiden Zysten aus Oberflächen- und Kernmaterial der westlichen Ostsee zeigten, daß nur kalte verdünnte Salzsäure (bis 10%) und kalte Flußsäure (bis 48%) bei einer Einwirkzeit von mehreren Stunden keine sichtbaren Veränderungen verursachen. Heiße, verdünnte Salzsäure, kalte Salpetersäure und Acetolyse dagegen zerstören bereits nach einer Einwirkzeit von wenigen Minuten die Zysten zum Teil völlig. Weitere Versuche, die mit Wasserstoffperoxid direkt an Einzelexemplaren unter dem Mikroskop vorgenommen wurden, zeigen, daß bereits durch eine 1% Wasserstoffperoxid-Lösung sogenannte "round browns" (*Brigantidium* spp.) aus Oberflächenproben nach 3-5 Minuten vollständig gelöst werden, während zum Beispiel gonyaulacoide Zysten aus Oberflächenproben der westlichen Ostsee nach 8 Stunden und frische *Pinus*-Pollen selbst nach zwei Wochen in 30%iger Wasserstoffperoxid-Lösung keinerlei mikroskopisch sichtbare Veränderungen aufweisen.

Besonders empfindlich gegen Acetolyse und Salpetersäureoxidation und zum Teil auch gegen konzentrierte oder heiße Salzsäure sind Wandsubstanzen, die vorwiegend auf Polysaccharidbasis (z.B. Cellulose, Chitin) aufgebaut sind und daher in bisherigen Untersuchungen wenig beachtet wurden. Hierzu zählen vor allem die Reste von Protozoen und Metazoen (z.B. Tintinniden-Loricae, Thecamöben-Gehäuse, Bryozoen-Dauerstadien, Crustaceen- und Insektenreste). Diese organisch-wandigen Mikrofossilien können durch besonders schonende Aufbereitungsmethoden gewonnen werden und sind zum Teil sehr

gute Klima- und Ökologieindikatoren, was eine intensivere Bearbeitung in zukünftigen Untersuchungen nahelegt (Frey, 1986; Medioli et al., 1988; Walker et al., 1991; u.a.).

Vor allem die unterschiedliche chemische Konstitution der Zystenwände von heterotrophen und autotrophen Dinoflagellaten zeigt, daß unterschiedliche Aufbereitungsmethoden und eine kritiklose Anwendung von sogenannten "palynologischen Standardmethoden" selbst innerhalb einer Fossilgruppe verschiedene (Relikt-)Vergesellschaftungen in einer Probe ergeben und dadurch letztendlich im Extremfall entgegengesetzte Faziesinterpretationen möglich machen.

5.2. Mikro-absorptionsphotometrische Untersuchung der Veränderung von *Pinus*-Sporopollenin durch Aufbereitung und Präparationschemikalien

Noch kritischer als bei der "visuellen Palynologie" ist die chemische Veränderung der organisch-wandigen Mikrofossilien durch die Aufbereitung für chemische Untersuchungen. Dies gilt nicht nur für die Mikro-Absorptionsphotometrie, sondern auch für Verfahren die auf thermischer oder chemischer Depolymerisation beruhen. Durch die chemische Veränderung der Ausgangssubstanz bei der Präparation entstehen bei der Analyse unterschiedliche Degradationsprodukte, die zur Fehlinterpretation des Ausgangsproduktes führen können. Grundvoraussetzung für spektralphotometrische Untersuchungen von einzelnen, organisch-wandigen Mikrofossilien ist daher eine Präparation ohne chemische Veränderung der Fossilien.

5.2.1. Absorptionsspektrum von *Pinus*-Sporopollenin

Zur Entwicklung eines geeigneten Verfahrens wurden die Auswirkungen der verschiedenen Reagenzien auf rezentes und fossiles Material untersucht. Um einen möglichst guten Vergleich zwischen den Veränderungen an rezentem mit denen an fossilem Material zu ermöglichen, wurden die Versuche an einer kosmopolitischen Pollenart durchgeführt. Als besonders geeignet erwiesen sich hierfür bisaccate Pollen, vor allem *Pinus*-Pollen, die aufgrund ihrer sehr guten Flug- und Schwimmeigenschaften weit verbreitet werden und selbst in landfernen marinen Sedimenten noch in ausreichender Anzahl zu finden sind.

Diese Versuchsreihen dienen aber nicht nur zur Optimierung der Aufbereitungsmethode, sondern können durch die kontrollierte chemische Veränderung der Biopolymere zumindest partiell zur Strukturaufklärung herangezogen werden. Zudem sind diese Versuche die Grundlage für die Interpretation der im Sediment stattfindenden chemischen Veränderungen der Biopolymere organisch-wandiger Mikrofossilien.

Grundvoraussetzung für vergleichende Untersuchungen der Sporopolleninchemie ist die Gewinnung von chemisch unverändertem Sporopollenin bzw. der Exinenwand ohne Restanteile von Zellinhaltsstoffen und Intinen. Um eine chemische Veränderung weitestgehend auszuschließen, wurden gefrorene *Pinus*-Pollen in einem gekühlten Mörser mechanisch aufgebrochen. Durch fraktioniertes Sieben mit destilliertem Wasser wurden anschließend die Exinenreste von den übrigen Pollenbestandteilen getrennt. Als optimale Bearbeitungstemperatur erwies sich der Bereich von 0°C bis -10°C, da hierbei die Intine mit dem Protoplasten noch nicht zerbricht und daher leichter abgetrennt werden kann. Dieser Vorgang wird unter ständiger mikroskopischer Kontrolle (Phasenkontrast und/oder Fluoreszenz) so lange wiederholt, bis keine Intinenbruchstücke oder andere Zellbestandteile mehr nachweisbar waren. Das so gewonnene Sporopollenin diente als Ausgangs- und Vergleichsmaterial sowohl für die Mikro-Absorptionsphotometrie als auch für die FTIR-Spektroskopie.

Das Absorptionsspektrum von unbehandeltem *Pinus*-Sporopollenin kann in einer ersten Näherung anhand von chemisch verändertem rezentem und fossilem *Pinus*-Sporopollenin in fünf Spektrenbereiche eingeteilt werden, die sich je nach chemischem oder diagenetischem Einfluß unterschiedlich verändern (Abb. 13). Die Spektrenbereiche I bis III können als das eigentliche "Sporopolleninsignal" angesehen werden, da das Minimum bei 260nm und die Maxima bei 286nm und 314nm in allen bisher untersuchten rezenten und diagenetisch nicht beanspruchten fossilen Pollen nachweisbar sind. Durch chemische Behandlung der Pollen (Präparation) können diese Maxima stark verändert werden, was auf einen chemischen Umbau des Sporopollenins hinweist. Das ausgeprägte Absorptionsmaximum bei 386nm im Spektralbereich IV konnte dagegen nur bei einem Teil der Pollen-Taxa und nur bei frischem Sporopollenin der bisher untersuchten Pollen nachgewiesen werden (siehe Kap. 6.4.1.). Der Spektralbereich V, der den gesamten Restbereich des sichtbaren Lichts umfaßt, zeigt keine weitere Differenzierung und ist daher als die Eigenabsorption der Pollenwand zu betrachten.

5.2.2. Acetolyse

Eine Veränderung der Absorption im Spektralbereich I bis III und somit der Sporopolleninchemie wird durch die Acetolyse (Erdtmann, 1960; Zetsche & Huggler, 1928) verursacht, welche die am häufigsten verwendete Präparationsmethode für rezente und teilweise auch für fossile Pollen ist. Dieses Verfahren wird ebenfalls häufig für die Präparation des Sporopollenins bei chemischen Untersuchungen verwendet, wodurch die verursachten chemischen Veränderungen auch in die Sporopollenin-Strukturmodelle einfließen können (Guilford et al., 1988; Kawase & Takahashi, 1995; Shaw & Apperley, 1996; u.a.).

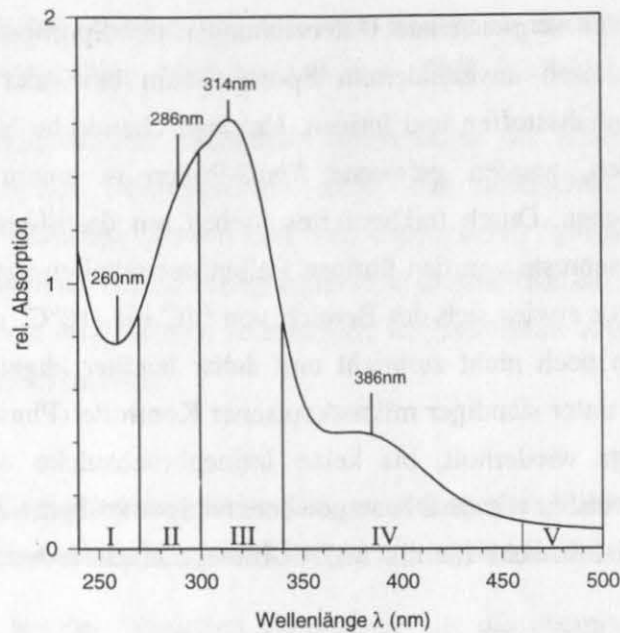


Abb.13: Gliederung eines Standard-Absorptionsspektrum von unbehandeltem *Pinus*-Sporopollenin in die einzelnen Spektrenbereiche (Erklärung siehe Text).

Vergleicht man die Absorptionsspektren von unverändertem und acetolysiertem *Pinus*-Sporopollenin, so zeichnet sich das Spektrum des acetolysierten Sporopollenin durch seine niedrigere Absorptionsintensität (Abb. 14Aa) in den Spektralbereichen III bis V aus, die in der Absorptionsdifferenz als Maximum bei 400nm deutlich hervortritt (Abb. 14Ab). Die Ursache für die niedrigen Werte bei dem acetolysierten Material ist aber nicht in einem Abbau des konjugierenden Systems zu suchen, sondern auf eine allgemeine Erniedrigung der "Eigenabsorption" der Pollenwand zurückzuführen, die sich durch die niedrigeren Absorptionsintensitäten im Spektralbereich V nachweisen läßt. Um die beiden Absorptionsspektren des nativen und des acetolysierten Materials vergleichen zu können, müssen sie auf den Eigenabsorptionswert normiert werden (Abb. 14Ba). Durch die Normierung zeigt sich, daß nur Teilbereiche des Absorptionsspektrums des acetolysierten Sporopollenins wesentlich verändert sind, und zwar im Absorptionsbereich IV, II und I mit einem Maximum der Intensitätsabnahme bei 400nm und einer Zunahme der Absorptionsintensität bei 270nm. Im Bereich von 470nm bis 500nm und 325nm bis 360nm sind die Absorptionsintensitäten bei unverändertem und acetolysiertem Sporopollenin identisch, was einer Absorptionsdifferenz mit dem Wert 1 entspricht (Abb. 14Bb).

Durch die Bandenmodellierung bzw. Berechnung eines synthetischen Absorptionsspektrums können die Veränderungen weiter präzisiert werden (Abb. 15). Die Abnahme der Absorptionsintensität beim acetolysierten Sporopollenin im Spektralbereich IV ist demnach auf die Abnahme der Intensität bei 386nm und in geringerem Umfang auf die Abnahme bei 409nm zurückzuführen, während die anderen Absorptionsintensitäten

(365nm und 428nm) unverändert bleiben. Ebenso ist die Absorptionsintensität bei 314nm sowohl bei dem unveränderten (Abb. 15a) als auch bei dem acetolysierten (Abb. 15b) Sporopollenin identisch. Die Absorptionzunahme im Spektrenbereich I und II kann durch die Erhöhung der Intensität bei 286nm und 260nm erklärt werden, die auf einen massiven chemischen Umbau des Sporopollenins durch die Acetolyse hindeutet, der auch die konjugierten Systeme innerhalb des Moleküls beeinflusst.

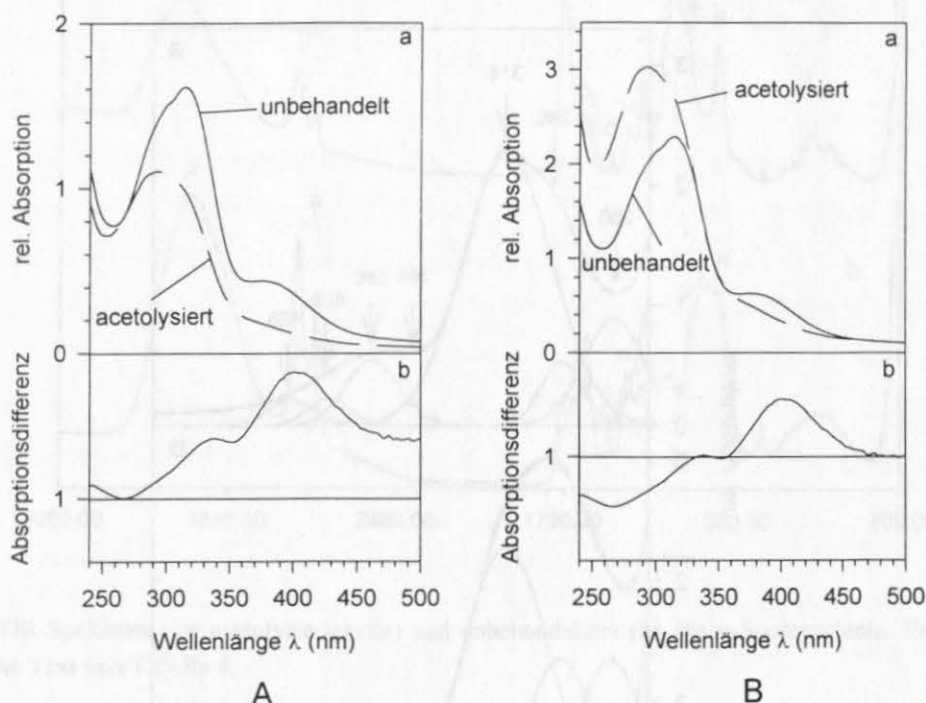


Abb. 14: Vergleich der Absorptionsspektren von unbehandeltem und acetolysiertem *Pinus*-Sporopollenin. Aa: Verteilung der Absorptionsintensität der jeweiligen Durchschnittsspektren; Ab: Absorptionsdifferenz; Ba: Verteilung der Absorptionsintensität der Durchschnittsspektren nach Normalisierung auf den Eigenabsorptionswert der Pollenwand; Bb: zugehörige Absorptionsdifferenz.

Da eine direkte chemische Zuordnung der UV-VIS-Absorptionsspektren des *Pinus*-Sporopollenins ohne weitere chemische Anhaltspunkte nicht möglich ist, wurden zusätzlich am selben Material FTIR-Spektren aufgenommen, die eine chemische Zuordnung der Spektrenveränderung ermöglichen (Abb. 16). Ebenso wie bei den UV-VIS-Absorptionsspektren sind bei den IR-Spektren von acetolysiertem *Pinus*-Sporopollenin (Abb. 16a) im Vergleich zu unbehandeltem *Pinus*-Sporopollenin (Abb. 16b) Bereiche mit erniedrigter und mit erhöhter Absorptionsintensität vorhanden, die eindeutig spezifischen Molekülgruppen zugeordnet werden können (Tab. 4).

Durch die Einführung der CH_3CO -Gruppe bei der Acetolysierung werden die Intensitäten der Carbonylbande (C) und der CH_3 -Deformationsbande (J) stark erhöht. Entsprechend der

CH₃-Anreicherung verschieben sich die beiden aliphatischen Valenzschwingungen (B) von 2923 cm⁻¹ nach 2935 cm⁻¹ und von 2853 cm⁻¹ nach 2860 cm⁻¹. Die Erniedrigung der Absorptionsintensität der aliphatischen Valenzschwingung ist hierbei direkt auf die Zunahme der CH₃-Gruppen zurückzuführen, da reine CH₃-Gruppen ohne CH₂-Gruppen mit geringeren Intensitäten bei 2960 cm⁻¹ und 2870 cm⁻¹ absorbieren. Eine ebenfalls intensive Absorptionszunahme ist bei der Ether-C-O-Valenzschwingung (L) zu verzeichnen.

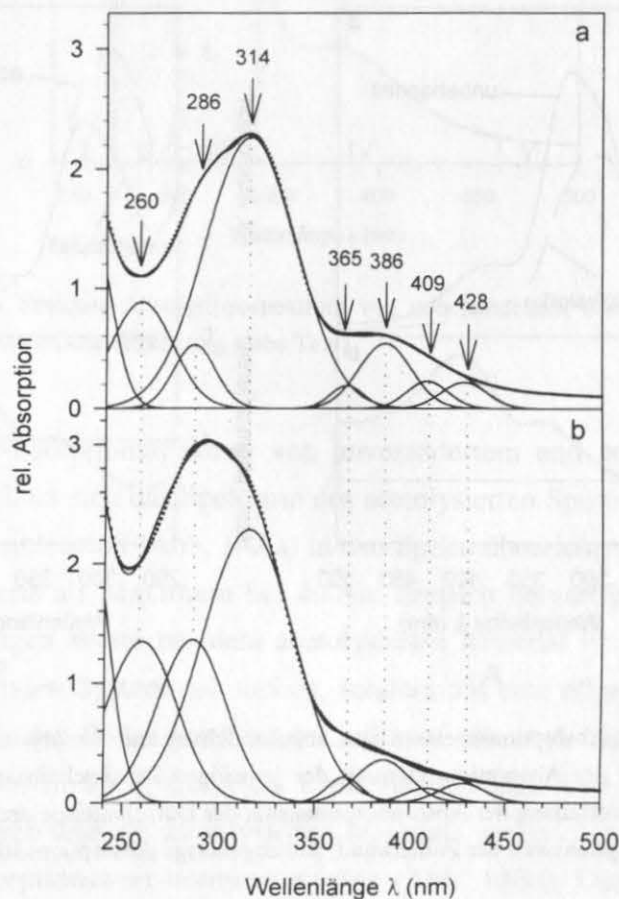


Abb. 15: Modellierung eines synthetischen Absorptionsspektrums für unbehandeltes (a) und acetolysiertes (b) *Pinus*-Sporopollenin anhand der Addition der theoretischen Banden mit Gaußscher Normalverteilung. Anhand dieses Modells läßt sich nachweisen, daß die spektrale (chemische) Veränderung durch die Acetolyse auf eine Zunahme der Banden bei 260nm und 286nm zurückzuführen ist, während die Bande bei 314nm unverändert bleibt.

Bei der Korrelation der Veränderungen des UV-VIS-Absorptionsspektrums und des IR-Absorptionsspektrums kann man davon ausgehen, daß die Einführung der CH₃CO-Gruppe keine wesentliche Änderung im UV-VIS-Spektrum verursacht, da im IR-Spektrum die Intensität der isolierten Carbonyl-Valenzschwingung (C) erhöht wird und die Intensität der konjugierten Carbonyl-Valenzschwingung (D) konstant bleibt. Die UV-Absorption von isolierten Carbonyl-Gruppen liegt aber außerhalb des Meßbereichs des Mikro-

Absorptionsphotometers ($I_{\text{max}}=187\text{nm}$; siehe Tab. 1) und ist daher nicht nachweisbar. Die Zunahme der UV-Absorption bei 260nm und 286nm bei acetolysiertem *Pinus*-Sporopollenin kann anhand der IR-Spektren nur auf eine Veränderung der konjugierten Systeme und damit auf eine Veränderung der Sporopolleninstruktur zurückgeführt werden.

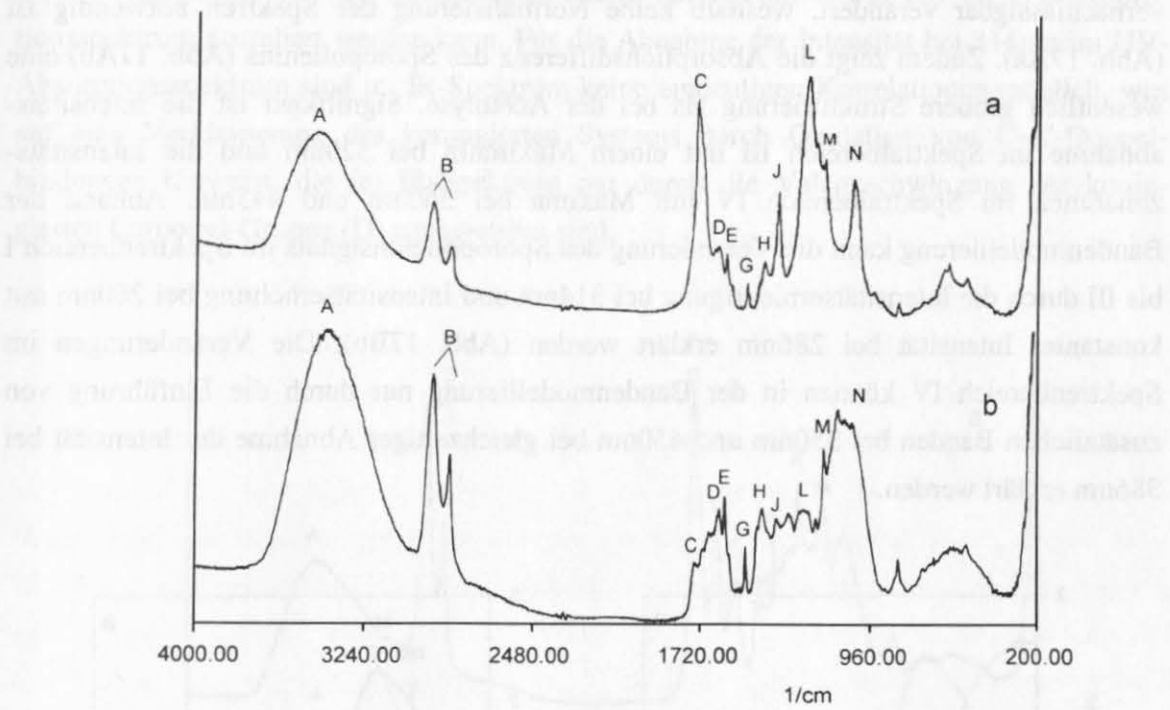


Abb. 16: FTIR-Spektrum von acetolysiertem (a) und unbehandeltem (b) *Pinus*-Sporopollenin. Erläuterung siehe Text und Tabelle 4.

Maximabezeichnung	Wellenzahl (cm ⁻¹)	Ursprung	Bemerkung
A	3600-3200	OH	O-H-Valenzschwingung in Alkoholen oder Phenolen
B	2960-2850	CH ₃ ; CH ₂	C-H-Valenzschwingung mit 2 Banden
C	1740	C=O	Carbonyl-Valenzschwingung (isoliert)
D	1634	C=O	Carbonyl-Valenzschwingung (konjugiert)
E	1608	C-C	C-C-Valenzschwingung in aromatischen Ringen
F	1568 + 1544	NO ₂	Valenzschwingung der Nitrogruppe
G	1516	C-C	C-C-Valenzschwingung in aromatischen Ringen
H	1440	CH ₃ ; CH ₂	asymmetrische Deformationsschwingung von CH ₃ und CH ₂
I	1384	NO ₂	Valenzschwingung der Nitrogruppe
J	1375	CH ₃	symmetrische Deformationsschwingung von CH ₃
K	1279	C-O	C-O-Valenzschwingung in Ether oder Alkohol
L	1240	C-O	C-O-Valenzschwingung in Ether
M	1170	C-O	C-O-Valenzschwingung in Ester, Karbonsäuren oder Ethern
N	1039	C-O	C-O-Valenzschwingung in Ethern

Tab. 4: Zuordnung des FTIR-Signals in den Abbildungen 24 und 26.

5.2.3. Salpetersäureoxidation

Wesentlich komplexere Veränderungen des Sporopollenins erfolgen durch die in der Paläo-Palynologie gebräuchliche Salpetersäureoxidation. Im Gegensatz zur Acetolyse wird bei der Salpetersäurebehandlung die Eigenabsorption der Pollenwand nicht bzw. vernachlässigbar verändert, weshalb keine Normalisierung der Spektren notwendig ist (Abb. 17Aa). Zudem zeigt die Absorptionsdifferenz des Sporopollenins (Abb. 17Ab) eine wesentlich größere Strukturierung als bei der Acetolyse. Signifikant ist die Intensitätsabnahme im Spektralbereich III mit einem Maximum bei 320nm und die Intensitätszunahmen im Spektralbereich IV mit Maxima bei 360nm und 445nm. Anhand der Bandenmodellierung kann die Veränderung des Sporopolleninsignals im Spektralbereich I bis III durch die Intensitätserniedrigung bei 314nm und Intensitätserhöhung bei 260nm mit konstanter Intensität bei 286nm erklärt werden (Abb. 17Bb). Die Veränderungen im Spektralbereich IV können in der Bandenmodellierung nur durch die Einführung von zusätzlichen Banden bei 350nm und 450nm bei gleichzeitiger Abnahme der Intensität bei 386nm erklärt werden.

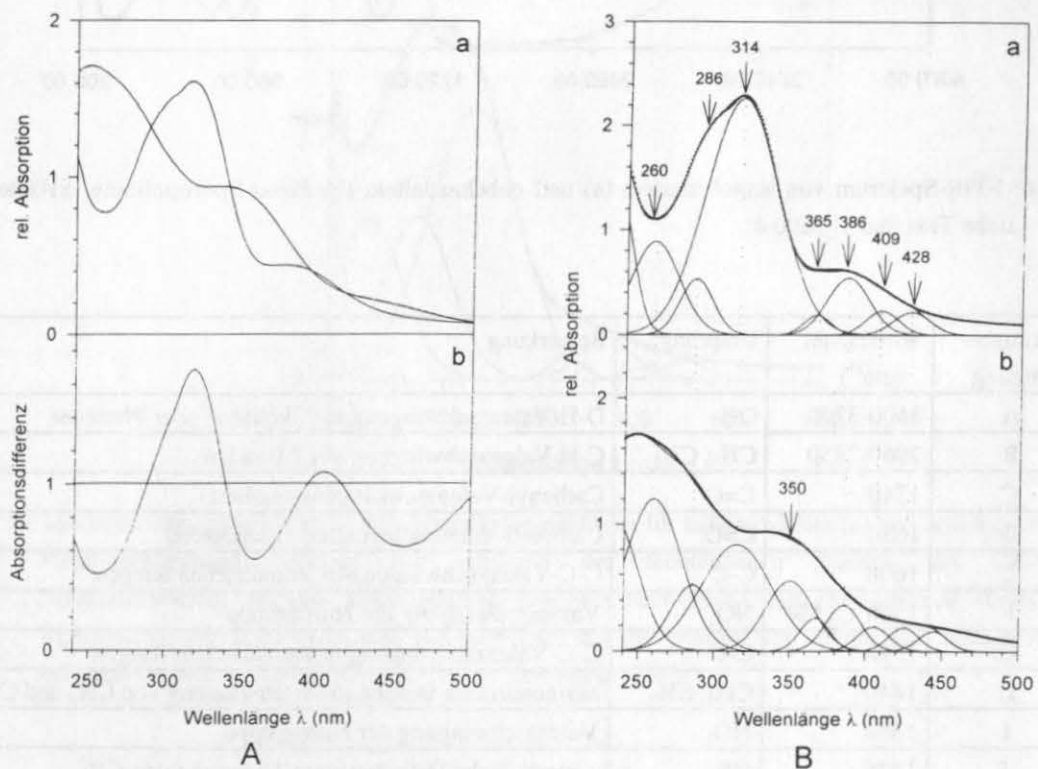


Abb. 17: Vergleich der Absorptionsspektren von nativem und mit Salpetersäure behandeltem *Pinus*-Sporopollenin. Verteilung der Absorptionsintensität der jeweiligen Durchschnittsspektren (Aa) und Absorptionsdifferenz (Ab). Modellierung des synthetischen Absorptionsspektrums für unbehandeltes (Ba) und mit Salpetersäure behandeltes (Bb) *Pinus*-Sporopollenin.

Der Einbau der Nitrogruppe in das *Pinus*-Sporopollenin durch die Salpetersäureoxidation ist auch im IR-Absorptionsspektrum durch ihre Valenzschwingung eindeutig nachzuweisen (Abb. 18a; Banden F und I). Zudem bewirkt die Oxidation eine Zunahme sowohl der im UV-Absorptionsspektrum nicht nachweisbaren isolierten (C) als auch der konjugierten (D) C=O-Gruppen, die mit der Intensitätserhöhung bei 260nm (Abb. 25) im UV-Absorptionsspektrum korreliert werden kann. Für die Abnahme der Intensität bei 314nm im UV-Absorptionsspektrum sind im IR-Spektrum keine eindeutigen Korrelationen möglich, was auf eine Verkleinerung des konjugierten Systems durch Oxidation von C=C-Doppelbindungen hinweist, die im IR-Spektrum nur durch die Valenzschwingung der konjugierten Carbonyl-Gruppe (D) nachweisbar sind.

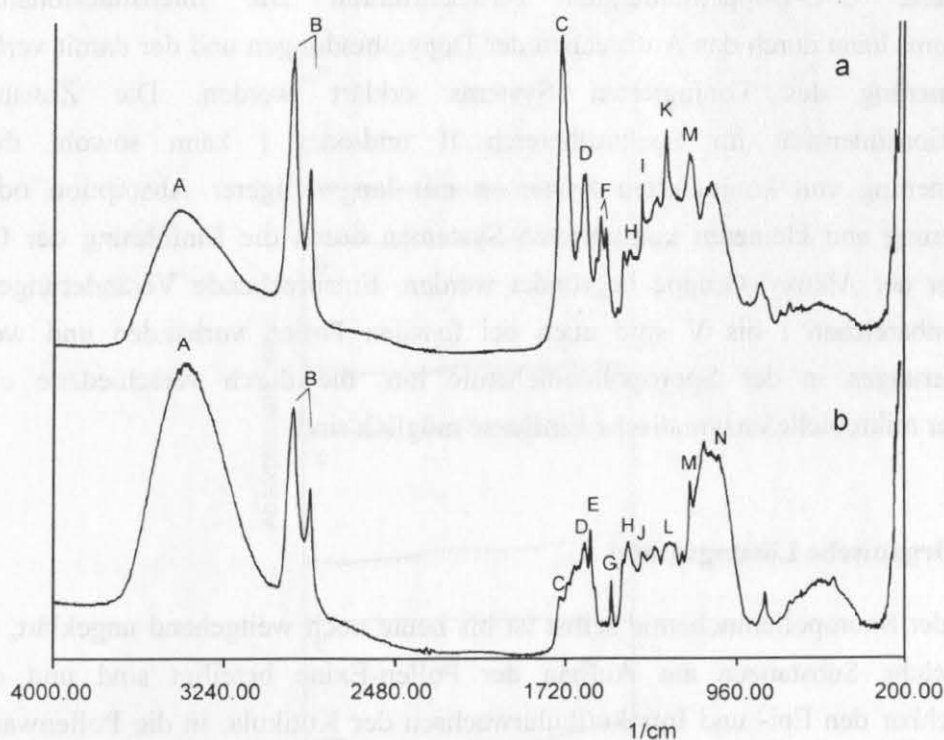


Abb. 18: FTIR-Spektrum von (a) mit Salpetersäure behandeltem und (b) unbehandeltem *Pinus*-Sporopollenin. Erläuterung siehe Text und Tabelle 4.

Anhand dieser Versuche können die ursprünglichen Absorptionsmaxima und deren Veränderungen in der UV-Absorption des unveränderten *Pinus*-Sporopollenins dahingehend interpretiert werden, daß es sich bei dem Absorptionsmaximum 386nm im Spektralbereich IV entweder um das konjugierte System einer in das eigentliche Sporopollenin eingelagerten Substanz handelt, die durch Acetolyse und Salpetersäureoxidation gelöst werden kann, oder um ein konjugiertes System innerhalb des Sporopollenins, das durch die Säurebehandlung hydrolytisch aufgebrochen oder abgespalten

wird. Der Absorptionsbereich von 386nm läßt vermuten, daß es sich bei dieser Substanz um die in *Pinus*-Pollen vorkommenden Flavone handeln könnte (Wiermann & Vieth, 1983), die absorptionspektrometrisch durch eine Verschiebung des Absorptionsmaximums von 40-60nm durch Bildung eines Aluminiumkomplexes nachweisbar sind (Jurid, 1969). Entsprechende Versuche mit Aluminiumchlorid zeigten keine Veränderung des Absorptionsspektrums im Vergleich zu unbehandeltem Sporopollenin, was vermuten läßt, daß das Absorptionsmaximum bei 386nm nicht auf Flavone zurückzuführen ist. Bei diesen Versuchen ist jedoch nicht auszuschließen, daß die Flavone durch weitere Lipide wie Wachsester (Hess et al., 1973; Niester et al. 1987; Southworth, 1990) maskiert sind und dadurch ein *in situ* Nachweis durch diese Methode nicht möglich ist.

Das Absorptionsmaximum bei 314nm im Spektralbereich III ist überwiegend auf konjugierte C=C-Doppelbindungen zurückzuführen. Die Intensitätsabnahme des Maximums kann durch das Aufbrechen der Doppelbindungen und der damit verbundenen Verkleinerung des konjugierten Systems erklärt werden. Die Zunahme der Absorptionsintensität im Spektralbereich II und/oder I kann sowohl durch die Verkleinerung von konjugierten Systemen mit langwelligerer Absorption oder durch Erweiterung von kleineren konjugierten Systemen durch die Einführung der Carboxyl- und/oder der Alkoxyl-Gruppe begründet werden. Entsprechende Veränderungen in den Spektralbereichen I bis V sind auch bei fossilen Pollen vorhanden und weisen auf Veränderungen in der Sporopolleninchemie hin, die durch verschiedene chemische und/oder mikrobielle/enzymatische Einflüsse möglich sind.

5.2.4. Organische Lösungsmittel

Außer der Sporopolleninchemie selbst ist bis heute noch weitgehend ungeklärt, wie viele und welche Substanzen am Aufbau der Pollen-Exine beteiligt sind und ob diese, vergleichbar den Epi- und Intrakutikularwachsen der Kutikula, in die Pollenwand eingelagert sind und/oder eine Deckschicht bilden. Um dieser Frage nachzugehen wurden native *Pinus*-Pollen mit verschiedenen organischen Lösungsmitteln jeweils drei Tage bei Zimmertemperatur behandelt, um möglicherweise weitere neben dem Sporopollenin vorhandene Substanzen selektiv zu lösen. Anhand dieser Versuchsreihe läßt sich absorptionsphotometrisch belegen, daß in der Pollenwand außer dem Sporopollenin noch eine Reihe weiterer Substanzen vorhanden sind, die unterschiedliches Lösungsverhalten gegenüber den verschiedenen Lösungsmitteln zeigen.

Praktisch keine Veränderung in der UV-Absorption der Pollenwand erfolgt nach der Behandlung mit Ethanol, weshalb die Absorptionsdifferenz zu nativem Sporopollenin keine Veränderung zeigt (Abb. 19a). Bei Behandlung mit Methanol (Abb. 19b) ist eine geringe, unstrukturierte Abnahme der Absorption in den Spektralbereichen IV und V

(340nm bis 500nm) festzustellen. Da die Abnahme der Absorption nur in den Spektrenbereichen mit primär niedrigen Absorptionsintensitäten auftritt (vergl. Abb. 13), kann man davon ausgehen, daß Substanzen aus der Pollenwand gelöst werden, die innerhalb des gemessenen Spektralbereiches keine Absorption besitzen. Durch ihr Fehlen wird die Eigenabsorption der Pollenwand herabgesetzt, was die annähernd konstante Abweichung von dem Standard in Bereichen mit niedriger Absorption erklärt. Bei der Behandlung mit Tetrachlorkohlenstoff (Abb. 19c) dagegen zeigt sich eine verstärkte Abnahme der Absorptionsintensität im Spektrenbereich V, vergleichbar der Chloroformbehandlung (Abb. 19d). Bei letzteren ist zusätzlich eine Absorptionsabnahme im Spektrenbereich I bei 250nm bis 260nm nachzuweisen, die auf eine weitere Pollenwandsubstanz hindeutet.

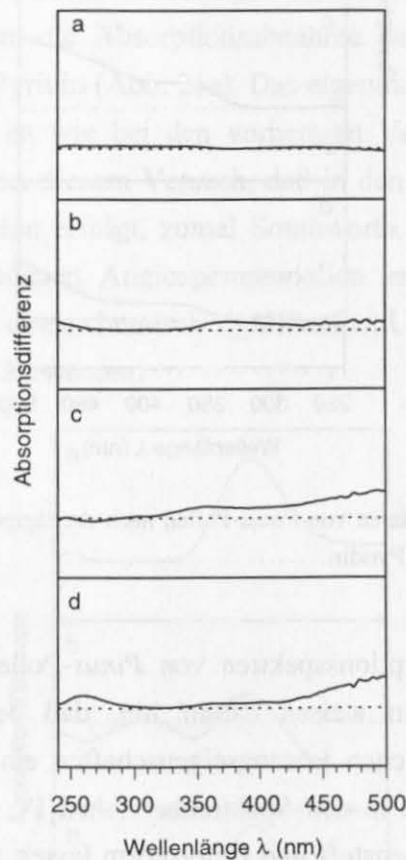


Abb. 19: Absorptionsdifferenz-Spektren von *Pinus*-Pollen nach dreitägiger Behandlung mit (a) Ethanol, (b) Methanol, (c) Tetrachlorkohlenstoff und (d) Chloroform.

Eine nahezu identische Abnahme der Absorption in den Spektrenbereichen IV bis V erfolgt nach der Behandlung der *Pinus*-Pollen mit Aceton (Abb. 20a), Pentan (Abb. 20b), Heptan (Abb. 20c) und Pyridin (Abb. 20d). Ebenso wie bei Chloroform kann bei Aceton, und in geringerem Maße bei Pentan, eine Verminderung der Absorptionsintensität im

Spektrenbereich I bei 260nm nachgewiesen werden. In allen Fällen entspricht die Absorption im Bereich zwischen 270nm und 340nm der des unbehandelten *Pinus*-Sporopollenins.

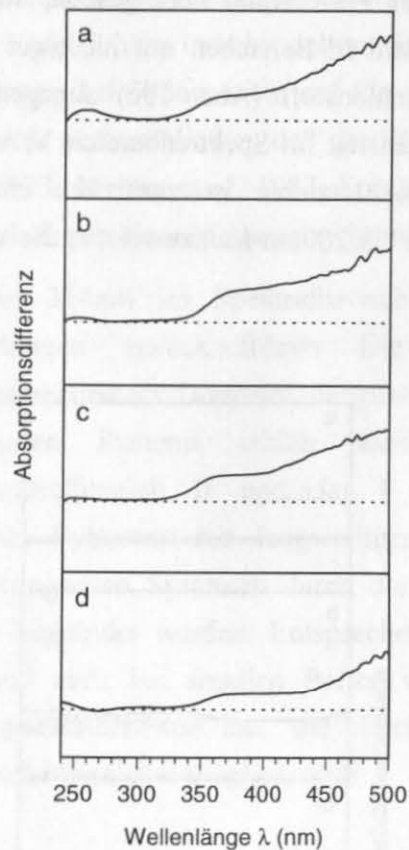


Abb. 20: Absorptionsdifferenz-Spektren von *Pinus*-Pollen nach dreitägiger Behandlung mit (a) Aceton, (b) Pentan, (c) Heptan und (d) Pyridin.

Diese Variationen der Absorptionsspektren von *Pinus*-Pollen nach der Behandlung mit verschiedenen Lösungsmitteln weisen darauf hin, daß der Pollenwand verschiedene Substanzen mit unterschiedlichen Lösungseigenschaften ein- oder aufgelagert sind. Die geringfügigen Veränderungen in den Spektrenbereichen IV und V nach der Behandlung mit Methanol, Tetrachlorkohlenstoff und Chloroform lassen vermuten, daß es sich hierbei um Substanzen handelt, die im Meßbereich keine Absorption besitzen. Dies können zum Beispiel einfache Wachsester sein, welche die Eigenabsorption der Pollenwand erhöhen, was bei der Absorptionsdifferenz durch die erhöhten Werte in Bereichen mit geringer Absorptionsintensität zum Ausdruck kommt. Nach der Behandlung mit Aceton, Pentan, Heptan und Pyridin dagegen ist eine deutlich verstärkte Abnahme der Absorption von dem Spektrenbereich IV nach V zu verzeichnen. Ob es sich hier ebenfalls um die Erniedrigung der Eigenabsorption durch das Fehlen einer weiteren Substanz handelt, oder ob eine

Substanz mit komplexen konjugierten Gruppen vorliegt, die entweder nur eine geringe Absorptionsintensität besitzt oder nur einen geringen Anteil am Aufbau der Pollenwand hat, ist nach dem derzeitigen Stand der Untersuchungen noch nicht zu beurteilen. Mit großer Wahrscheinlichkeit kann die Absorptionsabnahme im Spektrenbereich I bei 250nm bis 260nm einer eigenen Substanz zugeordnet werden, da sie unabhängig von der Intensitätsvariation im Spektrenbereich IV und V bei verschiedenen Lösungsmitteln vorkommt.

5.2.5. Einfluß von Aminen

Einen signifikanten Unterschied in der Absorptionsdifferenz zu den oben beschriebenen Lösungsmitteln erhält man bei der Behandlung der Pollenwände mit Ethanolamin (2-Aminoethanol). Es erfolgt eine intensive Abnahme der Absorption bei 390nm, während in dem Bereich oberhalb 450nm die Absorptionsabnahme wesentlich geringer ist als bei Aceton, Heptan, Pentan und Pyridin (Abb. 21a). Das eigentliche "Sporopolleninsignal" der Spektrenbereiche II und III ist wie bei den vorherigen Versuchen mit Lösungsmitteln unverändert. Erstaunlich ist bei diesem Versuch, daß in den Spektrenbereichen II und III keine Änderung der Absorption erfolgt, zumal Southworth (1974; 1990) zeigen konnte, daß die Exine von verschiedenen Angiospermenpollen in kaltem Ethanolamin gelöst werden. Dies kann nur durch einen chemisch signifikanten Unterschied zwischen Gymno- und Angiospermenpollen erklärt werden.

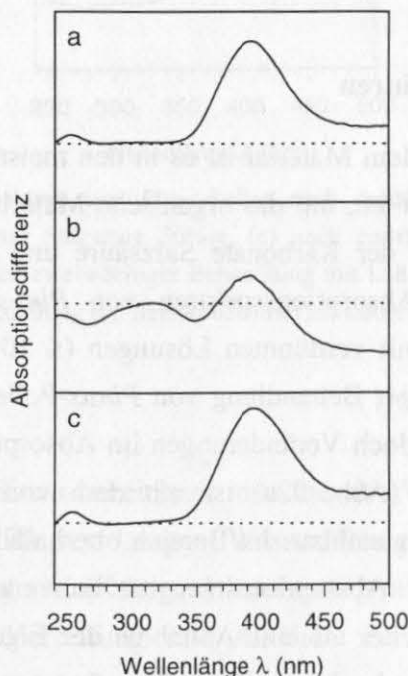


Abb. 21: Absorptionsdifferenz-Spektren von *Pinus*-Pollen nach dreitägiger Behandlung mit (a) 2-Aminoethanol und (b) Pyrrolidin. (c) Absorptionsdifferenz-Spektrum der mit Pyrrolidin behandelten *Pinus*-Pollen nach der Hydrolyse mit verdünnter Salzsäure.

Bei der Behandlung mit Pyrrolidin (Abb. 21b) ist ebenfalls eine Abnahme der Absorptionsintensität entsprechend der Ethanolaminbehandlung bei 400nm zu beobachten. Im Gegensatz zu den bisher durchgeführten Versuchen ist aber eine Zunahme der Absorptionsintensität bei den Wellenlängen 260nm bis 270nm, 340nm bis 360nm und oberhalb 420nm zu verzeichnen. Diese Zunahme der Absorptionsintensität ist zu erwarten, da Pyrrolidin mit Carboxylgruppen unter Enaminbildung reagiert, das in nichtkonjugierten Systemen einen Absorptionsbereich von 260nm bis 270nm besitzt (Jaffé & Orchin, 1962). Entsprechend kann die Absorptionszunahme im Bereich von 340nm bis 360nm als Enamin innerhalb eines konjugierten Systems interpretiert werden, da nach den FTIR-Spektren von nativem *Pinus*-Sporopollenin (siehe Abb. 16b; 18b) sowohl konjugierte als auch nichtkonjugierte Carboxylgruppen im Sporopolleninmolekül vorhanden sind. Dieses "Sporopollenin-Enamin" kann durch hydrolytische Spaltung wieder in das "Ausgangs-Sporopollenin" zurückgeführt werden (Beyer & Walter, 1991), wodurch sich ein praktisch identisches Absorptionsspektrum zu Ethanolamin ergibt (Abb. 21c).

Im Vergleich zu der Auswirkung von Aceton oder Pentan auf die Absorption der Pollenwand in dem Spektrenbereich oberhalb 450nm zeigen die Absorptionsspektren der mit Ethanolamin und Pyrrolidin behandelten Pollen nur eine geringe, unstrukturierte Veränderung. Dies läßt vermuten, daß durch die Behandlung der Pollenwand mit den basischen Aminen auf- oder eingelagerte Substanzen nur in geringem Umfang gelöst werden und die signifikante Absorptionsabnahme bei 400nm auf eine direkte Veränderung des Sporopollenin-Moleküls zurückzuführen ist.

5.2.6. Einfluß von Halogensäuren

Bei der Präparation von fossilem Material ist es in den meisten Fällen unumgänglich, die Sedimente chemisch zu entfernen, um das organische Material anzureichern. Hierzu wird im Regelfall zur Entfernung der Karbonate Salzsäure und zur Entfernung der Silikate Flußsäure verwendet. Die Absorptionsspektren von *Pinus*-Pollen zeigten nach einer mehrstündigen Behandlung mit verdünnten Lösungen ($\leq 10\%$) der beiden Säuren keine Veränderung. Nach mehrtägiger Behandlung von *Pinus*-Pollen mit konzentrierten Säuren (HF 48%; HCL 30%) sind jedoch Veränderungen im Absorptionsspektrum nachzuweisen. Der Einfluß von Flußsäure (Abb. 22a) ist mit dem von Methanol oder Tetrachlorkohlenstoff (Abb. 19b, c) vergleichbar. Im Bereich oberhalb 350nm ist eine geringfügige, unstrukturierte Abnahme der Absorptionsintensität zu verzeichnen, die analog zu den organischen Lösungsmitteln eher als eine Abnahme der Eigenabsorption der Pollenwand und weniger als eine chemische Veränderung des Sporopollenins zu interpretieren ist. Nach der Salzsäurebehandlung (Abb. 22b) nimmt die Absorptionsintensität bei 270nm und oberhalb von 440nm zu, was auf die Einbindung von Chloratomen in das Sporopollenin,

vergleichbar der Nitrogruppe bei der Salpetersäureoxidation (siehe Kap. 5.2.3.), zurückgeführt werden kann.

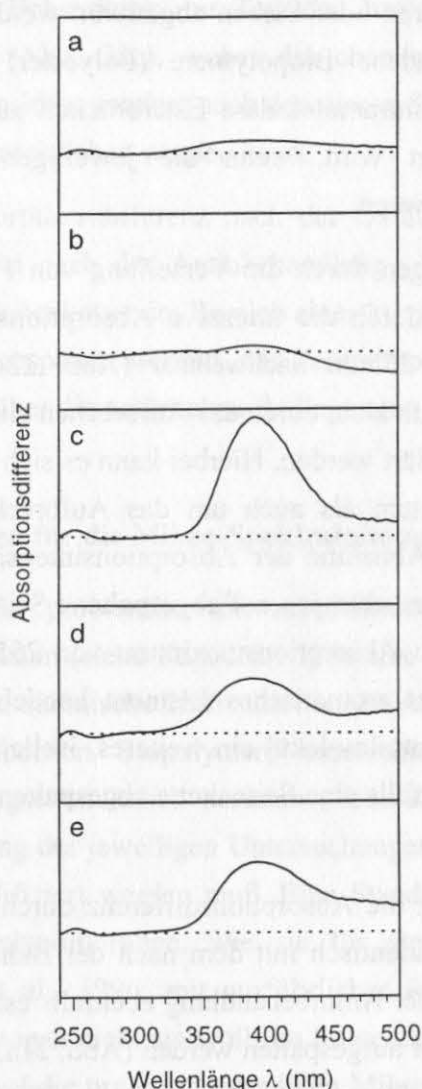


Abb. 22: Absorptionsdifferenz-Spektren von *Pinus*-Pollen nach dreitägiger Behandlung mit (a) kalter Flußsäure 48%ig, (b) kalter Salzsäure 30%ig, (c) nach einstündiger Verseifung bei 80°C mit 10%iger Kalilauge, (d) nach zweiwöchiger Behandlung mit kaltem Wasserstoffperoxid 30%ig und (e) nach dreistündiger Behandlung mit dem konzentrierten Laborspülmittel Capasal®.

5.2.7. Verseifung

Als Verseifung im engeren Sinne bezeichnet man die der Veresterung entgegengesetzte hydrolytische Spaltung mit Hilfe von Laugen, Wasser, Säuren oder Enzymen (Esterasen). Da das fossile organische Material (Kerogen) zu einem großen Teil aus estergebundenen Fettsäuren besteht, ist die Verseifung mit Alkalien ein in der Palynologie häufig angewendetes Verfahren, um resistente Biopolymere anzureichern. Hierbei werden die Esterbindungen komplexer Moleküle mit heißer, verdünnter Kali- oder Natronlauge aufgebrochen, wobei das in der Regel wasserlösliche Alkalisalz der entsprechenden

Fettsäuren entsteht. Durch diesen Vorgang werden isolierte und an den organisch-wandigen Mikrofossilien anhaftende Kerogenaggregate dispergiert und können anschließend durch Zentrifugieren oder Sieben abgetrennt werden. Durch die Verseifung werden aber auch estergebundene Biopolymere (Polyester) zerstört, estergebundene Seitenketten abgespalten oder intramolekulare Esterbrücken aufgebrochen, wodurch das Absorptionsspektrum verändert wird, wenn die jeweiligen Esterbindungen in ein konjugiertes System integriert waren.

Die Spaltung von Esterbindungen durch die Verseifung von *Pinus*-Sporopollenin ist im Absorptionsdifferenzspektrum durch die intensive Absorptionsabnahme bei 390nm und eine geringere Abnahme bei 255nm nachweisbar (Abb. 22c). Die Veränderung des Absorptionsspektrums bei 390nm kann durch das Aufbrechen einer Esterbindung innerhalb eines konjugierten Systems erklärt werden. Hierbei kann es sich sowohl um das Abspalten von estergebundenen Seitenketten als auch um das Aufbrechen von intermolekularen Esterbindungen handeln. Die Abnahme der Absorptionsintensität bei 255nm kann nach dem bisherigen Stand der Untersuchungen auf abgespaltene Seitenketten, die ein isoliertes konjugiertes System mit einem Absorptionsmaximum von 255nm bilden, zurückgeführt werden, wobei es sich um ein aromatisches Element handeln kann. Es ist aber auch möglich, daß sich auf dem Zentralmolekül ein weiteres, isoliertes, kleineres konjugiertes System befindet, von dem ebenfalls eine Seitenkette abgespalten oder eine intramolekulare Esterbrücke aufgespalten wird.

Das Absorptionsspektrum bzw. die Absorptionsdifferenz durch die alkalische Verseifung bei *Pinus*-Pollen ist praktisch identisch mit dem nach der Behandlung mit Aminen, was darauf schließen läßt, daß bei der Aminbehandlung ebenfalls estergebundene Bereiche des Sporopolleninmoleküls ab- oder aufgespalten werden (Abb. 21a,c). In allen Fällen kann im Spektrenbereich II und III (270nm bis 340nm) keine Veränderung gegenüber dem unbehandelten Sporopollenin festgestellt werden. Dies bestätigt den Grundansatz des Sporopollenin-Struktur-Modells von Kawase & Takahashi (1995), die von einem stabilen Zentralmolekül mit konjugierten Seitenketten ausgehen. Die Annahme, daß es sich bei dem Zentralmolekül um ein einfaches aliphatisches Polymer handelt, kann nicht bestätigt werden, da die Absorption im Spektrenbereich II und III eindeutig auf komplexe konjugierte Systeme hinweist.

5.2.8. Oxidationsmittel

Um die Resistenz der *Pinus*-Pollen gegen direkte Oxidation zu testen, wurden diese zwei Wochen mit 30%igem Wasserstoffperoxid bei Zimmertemperatur behandelt. Trotz dieser massiven Oxidation zeigt sich im Absorptionsspektrum bzw. in der Absorptionsdifferenz im Spektrenbereich II und III praktisch keine Veränderung (Abb. 22d), während bei 390nm

eine signifikante und bei 250nm eine geringe Abnahme der Absorption zu verzeichnen ist. Nahezu dieselben Veränderungen im Absorptionsspektrum treten bei *Pinus*-Sporopollenin nach einer achtstündigen Behandlung mit Tensiden bzw. handelsüblichen Labor- oder Haushaltsspülmitteln auf (Abb. 22e), wobei die chemische Veränderung des Sporopollenins nicht nur den Tensiden, sondern auch den diesen Spülmitteln in geringen Mengen zugesetzten Peroxiden zugeschrieben werden kann.

Die Ähnlichkeit der Absorptionsdifferenz nach der Oxidation mit derjenigen nach der Verseifung (Abb. 22c) und nach der Aminbehandlung (Abb. 21a,c) läßt auch bei der Oxidation vermuten, daß Seitenketten im Bereich eines konjugierten Systems innerhalb des Sporopolleninmoleküls abgespalten werden, das Zentralmolekül jedoch gegen Oxidation, die in ihrer Intensität weit über die natürlichen Bedingungen hinaus geht, resistent ist.

5.3. Präparationsverfahren für die Mikro-Spektralphotometrie

Während rezent Material problemlos mit mechanischen Mitteln ohne chemischen Einfluß präpariert werden kann (siehe Kap. 5.2.1.), ist eine Anreicherung und Präparation von fossilem Material ohne chemische Hilfsmittel nur in Ausnahmefällen möglich. Hinzu kommt, daß die verschiedenen Biopolymere unterschiedliche Resistenz gegen die verschiedenen Aufbereitungschemikalien besitzen (siehe Kap. 5.1), weshalb die Aufbereitung je nach Fragestellung der jeweiligen Untersuchungen und der Sedimentzusammensetzung entsprechend modifiziert werden muß. Eine Standardaufbereitung für organisch-wandige Mikrofossilien/Palynomorphen, wie sie für stratigraphische Untersuchungen verwendet wird (Wood et al., 1996, mit ausführlicher Referenzliste), ist für spektral-photometrische Untersuchungen nicht sinnvoll. Im Folgenden werden daher nur Verfahren und deren Auswirkungen auf die organisch-wandigen Mikrofossilien diskutiert, die für die Präparation für mikrospektralphotometrische Untersuchungen geeignet sind.

5.3.1. Mechanische Verfahren

Das Ziel dieser Verfahren ist die Sedimentpartikel möglichst vollständig in Suspension zu bringen oder zu lösen, um die organisch-wandigen Mikrofossilien durch weitere mechanische Verfahren wie Sieben oder Schwereretrennung zu isolieren oder zumindest anzureichern. Das einfachste Verfahren ist hierbei die Suspendierung in Wasser, was mit den meisten nichtkonsolidierten Sedimenten möglich ist. Sehr gute Ergebnisse sind bei der Wassersuspension zu erzielen, wenn die Proben gefriergetrocknet wurden, da die einzelnen Sedimentpartikel durch die Eisausdehnung beim Frieren von feuchten Proben voneinander getrennt werden und dadurch leichter in Suspension gebracht werden können. Weniger erfolgreich ist diese Methode bei kerogenreichen Sedimenten, da das organische Material

in der Regel in Aggregaten vorliegt, die die Mikrofossilien einschließen. Diese Aggregate können zwar durch Acetolyse oder Salpetersäureoxidation gespalten oder gelöst werden, aufgrund der durch diese Methoden verursachten chemischen Veränderungen der Biopolymere sind diese Verfahren für spektralphotometrische Präparation nicht anwendbar (vergl. Kap. 5.2.2. und 5.2.3.).

Eine Möglichkeit die Kerogenaggregate zu suspendieren oder zumindest stark zu verkleinern ist die Ultraschallbehandlung. Da es sich hierbei um ein rein physikalisches Verfahren handelt, sind keine chemischen Veränderungen der Biopolymere zu erwarten. Dafür treten aber bereits nach wenigen Sekunden Ultraschallbehandlung vor allem bei dünnen, filigranen und ornamentierten Mikrofossilien mechanische Zerstörungen auf, so daß diese taxonomisch nicht mehr zugeordnet werden können. Gute Resultate sind mit diesem Verfahren zu erreichen, wenn die Ultraschallbehandlung nur in Kurzintervallen von 1-2 Sekunden erfolgt und die Probe anschließend sofort gesiebt wird. Häufig ist auch dieses Verfahren nicht ausreichend, um auflagerungsfreie organisch-wandige Fossilien zu erhalten. Hinzu kommt, daß kalkige und silikatische Partikel sowohl anorganischen als auch organischen Ursprungs (Quarzkörner, Diatomeen, Foraminiferen etc.) die organisch-wandigen Mikrofossilien überdecken, was eine weitere chemische Behandlung der Probe unumgänglich macht.

5.3.2. Chemische Verfahren

Eine chemische Veränderung oder selektive Lösung der Biopolymere organisch-wandiger Mikrofossilien ist durch die Silikatlösung mit kalter verdünnter Flußsäure (bis 48%ig) nicht nachweisbar. Dagegen sind bei der Karbonatlösung mit konzentrierter Salzsäure (30%ig) Veränderungen der Biopolymere festzustellen (siehe Kap. 5.2.6.). Zudem konnte anhand von Vergesellschaftungsvergleichen an Proben, die jeweils mit und ohne kalte 30%ige Salzsäure präpariert wurden, eine selektive Lösung organisch-wandiger Mikrofossilien festgestellt werden, die zudem von den während der Sedimentation erfolgten chemischen Veränderungen der Biopolymere abhängig ist. Einer selektiven Lösung unterliegen vor allem Tintinniden-Loricae, Thecamöben- (Testaceen-)schalen und die Zellwände von Cyanophyceen, die aus diesem Grund im Fossilbereich nur wenig Beachtung finden. Eine vollständige Erhaltung auch der oben erwähnten chemisch problematischen Mikrofossilien sowie keine chemische Veränderung des Sporopollenins zeigte sich bei der Verwendung von stark verdünnter Salzsäure ($< 1\%$) mit der "Tropf-Methode". Hierzu werden die Sedimente im Verhältnis von ca. 1:20 mit Wasser aufgeschlämmt und bis zur vollständigen Karbonatlösung tropfenweise Salzsäure zugegeben.

Trotz umfangreicher Versuchsreihen bis hin zu bakteriologischen Verfahren (Brenner, 1996) konnte bisher kein Verfahren zur Abtrennung/Auflösung von amorphem Kerogen ohne chemische Veränderung mindestens eines der organisch-wandigen Mikrofossilien entwickelt werden. Für die Praxis bedeutet dies, daß bei Sedimenten mit hohem organischen Anteil die Aufbereitungsmethode an die spezifischen Fragestellungen angepaßt werden muß. Dies gilt besonders für die Pollen- und Dinoflagellatenstratigraphie/-ökologie, da hierbei möglichst alle organischen Bestandteile aus der Probe entfernt sein sollten, um eine hohe Anreicherung der Palynomorphen zu erreichen.

Für spektralphotometrische Untersuchungen ist es unabdingbar, daß auf den zu messenden Wänden der organisch-wandigen Mikrofossilien keine Auflagerungen vorhanden sind, die das Absorptionsspektrum beeinflussen, und daß die chemische Struktur der entsprechenden Biopolymere nicht verändert wird. Das bisher einzige Verfahren, das diese Bedingungen annähernd erfüllt, ist die "Alkalische Oxidation". Hierzu werden die Sedimente ca. eine Stunde mit einer 1%igen wäßrigen Lösung von Wasserstoffperoxid und Natriumphosphat behandelt und anschließend abgesiebt. Bei Bedarf kann dieser Vorgang mehrmals wiederholt werden, bis die Probe den gewünschten Reinigungsgrad erreicht hat. Der besondere Vorteil dieses Verfahrens liegt darin, daß unkonsolidierte Sedimente ohne vorherige Säurebehandlung verwendet werden können und dadurch auch kalkige und silikatische Mikrofossilien erhalten bleiben, da praktisch nur die Tonminerale, Huminstoffe und das amorphe Kerogen entfernt werden.

Je nach Fragestellung ist dieses Verfahren für spektralphotometrische Untersuchungen nur bedingt einsetzbar. Obwohl selbst empfindliche organisch-wandige Mikrofossilien wie Tintinniden-Loricae, Cyanophyceen-Zellwände und selbst Pflanzenreste mit Cellulosewänden erhalten bleiben, ist mit einer zumindest teilweisen Veränderung der Biopolymere durch die Oxidation zu rechnen. Versuche mit konzentriertem Wasserstoffperoxid (30%ig) an rezenten *Pinus*-Pollenwänden (vergl. Kap. 5.2.8.) zeigten, daß durch die direkte Oxidation mit Sauerstoff entweder Seitenketten abgespalten werden oder ein komplexes konjugiertes System innerhalb des Moleküls durch Aufbrechen von Doppelbindungen verkleinert wird. In beiden Fällen ist die Auswirkung im Absorptionsspektrum durch die Abnahme der Absorption bei 390nm nachweisbar. Vergleichende Untersuchungen mit nur mechanisch aufbereiteten *Pinus*-Pollen aus Oberflächenmaterial zeigen, daß auch bei rezenten, der natürlichen Sedimentation ausgesetzten *Pinus*-Pollen eine Abnahme der Absorptionsintensität bei 390nm vorhanden ist. Diese Abnahme weist älteres in getrocknetem Zustand aufbewahrtes Sammlungs- bzw. Herbariummaterial nicht auf. Daraus folgt, daß die Oxidation bzw. der mikrobielle Abbau der chemisch instabilen Bereiche des Sporopolleninmoleküls bereits im Frühstadium der Sedimentation und nur bei Anwesenheit von Wasser erfolgt. Da eine weitere Beeinflussung des Sporopollenins durch Peroxide in Laborversuchen nicht nachweisbar war, kann die "Alkalische Oxidation"

zumindest für fossiles Sporopollenin und Polysaccharide (Cellulose, Chitin, Murein) als Aufbereitungsverfahren angewendet werden.

Die einzigen organisch-wandigen Mikrofossilien, bei denen eine massive chemische Veränderung durch die "Alkalische Oxidation" festgestellt werden konnte, sind die Zysten heterotropher protoperidinioider Dinoflagellaten. Dieser Vorgang kann direkt unter dem Mikroskop an Einzelexemplaren beobachtet werden, indem als Reaktionsgefäß ein eingeschliffener Glas-Objektträger verwendet wird. Bei Versuchen mit verschiedenen Arten der Gattung *Brigantedinium* ("round browns") und 1%iger Wasserstoffperoxid-Phosphatlösung wurden die Zysten innerhalb von 2-3 Minuten völlig entfärbt, behielten aber ihre Form und ursprüngliche Wanddicke von ca 0,5µm. Nach weiteren zwei Minuten kollabierten die Zysten, und es verblieb nur noch eine sehr dünne Membran, die in Streupräparaten praktisch nicht mehr bestimmbar ist. Die "Restmembran" von *Brigantedinium* zeigt im Gegensatz zur eigentlichen braunen Zystenhülle Autofluoreszenz, was eindeutig auf chemisch unterschiedliche Wandsubstanzen der Hauptzystenwand und der inneren Membran hinweist.

Für stratigraphische Untersuchungen in quartären marinen Sedimenten ist daher die "Alkalische Oxidation" nur bedingt geeignet, da durch sie ebenso wie durch die Acetolyse Zysten heterotropher Dinoflagellaten zerstört bzw. unbestimmbar werden. Trotz dieser Einschränkung ist die "Alkalische Oxidation" auch für stratigraphische und vor allem für ökologisch-fazielle Untersuchungen ein Gewinn, da zum Beispiel durch die parallele Anwendung von Salpetersäureoxidation und/oder Verseifung und "Alkalischer Oxidation" an einer geteilten Probe praktisch alle in der jeweiligen Probe vorhandenen organisch-wandigen Mikrofossilien erfaßt werden können. Dadurch lassen sich das stratigraphische und fazielle Auflösungsvermögen und die entsprechenden Aussagemöglichkeiten erheblich steigern.

6. Organisch-wandige Mikrofossilien: Biologie, Biopolymere und Absorptionsspektren

6.1 Cyanophyceae

Die Cyanophyta (Cyanobakterien, Myxophyta, Blaualgen, Blau-Grünalgen) gehören wie die Bakterien zum Reich der Prokaryota, deren Zellen keinen Zellkern besitzen und deren DNS frei im Zentrum der Zelle liegt. Außerdem fehlen ihnen die Mitochondrien, der Golgi-Apparat, das endoplasmatische Reticulum und die Plastiden. Sie vermehren sich nur vegetativ, und es sind keine begeißelten Zellen innerhalb des Lebenszyklus bekannt. Sie kommen sowohl als Einzeller als auch in kolonialer oder fädiger Organisation vor.

Verschiedene Cyanophyceen besitzen Heterocysten, die sie befähigen, Luftstickstoff zu binden, wodurch sie bei ihrer Ernährung von gelöstem Nitrat und Ammonium unabhängig sind. Die Heterocysten unterscheiden sich von den vegetativen Zellen durch eine dicke Zellwand, die einen ins Zellinnere vorspringenden Höcker (polarer Nodus) besitzt. Dieser wird von einem Kanal durchbohrt, um eine Verbindung zur angrenzenden vegetativen Zelle herzustellen. Bei Heterozysten, die innerhalb eines Trichoms liegen, tritt der Nodus an beiden Zellenden auf, bei terminalen Heterocysten dagegen nur an dem zum Trichom gelegenen Zellende.

Cyanophyceen leben planktisch, benthisch und endolithisch (Kalkbohrer) und sind praktisch in allen Biotopen verbreitet: im Süß- und Salzwasser, auf feuchten Erden und Baumrinden, aber auch in Extrembiotopen wie Gletschern, Wüsten, hypersalinen Gewässern und heißen Quellen. Unter ungünstigen Lebensbedingungen bilden verschiedene Arten der Cyanophyceen große dickwandige Zellen, die Akineten (Herdman, 1987; Nichols & Adams, 1982; u.a.).

Systematisch können die Cyanophyceen gemäß der unterschiedlichen Organisationshöhe in zwei Gruppen eingeteilt werden, die jedoch nicht den natürlichen phylogenetischen Einheiten entsprechen. Die erste Gruppe sind die Coccogoneae, zu der die Einzeller und koloniale Formen gezählt werden, die fossil überwiegend aus präkambrischen Sedimenten beschrieben sind (Hofmann, 1976; Horodyskie & Donaldson, 1983; Knoll & Golubic, 1992; Schopf, 1968; u.a.). In diese Gruppe wird von verschiedenen Autoren die zum Teil gesteinsbildend (Kukersit) auftretende Alge *Gloeocapsomorpha prisca* gestellt, deren Zugehörigkeit bis heute umstritten ist (Foster et al., 1989; Glikson et al., 1989; Stasiuk et al., 1990; u.a.).

Die zweite Gruppe sind die Hormogoneae, welche die langfädigen Formen umfassen und ebenfalls überwiegend aus präkambrischen Sedimenten beschrieben sind. Eine Zuordnung von fädigen organisch-wandigen Mikrofossilien zu den Cyanophyceen in mesozoischen und tertiären Sedimenten erfolgte bisher von Batten & Van Geel (1985) in

unterkretazischen Sedimenten und von Zhang (1977) in tertiären Sedimenten. Fossile Akineten und Zellhüllen aus spät- und postglazialen limnischen Ablagerungen sind bereits seit der Jahrhundertwende bekannt und in vereinzeltten Arbeiten aus limnischen Sedimenten beschrieben (Cronberg, 1986; Lagerheim, 1901; Livingstone & Jaworski, 1980; Van Geel et al., 1983; 1989; 1994; u.a.).

Die Zellwände der Cyanophyceen bestehen ebenso wie diejenigen der Bakterien aus Murein, das bisher fossil noch nicht eindeutig nachgewiesen ist (vergl. Kap. 4.3.3.). In den Zellwänden kultivierter fädiger Cyanophyceen wurden von Chalansonnet et al. (1987) außer Murein auch unverzweigte Kohlenwasserstoffketten und Fettsäuren sowie deren Ester nachgewiesen, die sie mit den Biopolymeren von *Botryococcus* vergleichen. Entsprechende Lipide bzw. Lipopolysaccharide wurden auch bei *Gloeocapsa prisca* nachgewiesen (Fowler, 1992; Hoffmann et al., 1987; Stasiuk et al., 1993; u.a.). Aus rezenten und fossilen Cyanophyceenmatten sowie aus Stromatolithen sind noch eine Reihe weiterer organischer Verbindungen beschrieben, die aber weniger den Zellwänden, sondern überwiegend dem Zellinhalt zuzuschreiben sind und daher als Chemofossilien (Biomarker) betrachtet werden (Goossens et al., 1986; Kenig et al., 1995; Robinson & Eglinton, 1990; u.a.).

Durch verbesserte Aufbereitungsmethoden (siehe Kap. 5.3.) konnten sowohl aus limnischen als auch aus marinen Sedimenten der westlichen Ostsee Zellhüllen der fädigen Hormogoneae isoliert werden, an denen absorptionsphotometrische Messungen durchgeführt wurden. Alle bisher gemessenen Chlorophyceenwände besitzen ein schwach strukturiertes Absorptionsspektrum, das durch eine hohe "Eigenabsorption" im UV-Bereich geprägt ist. Durch nichtlineare Modellierung des Spektrums (siehe Kap. 2.3) ist es möglich eindeutige Absorptionsmaxima herauszufiltern, mit einem Hauptmaximum bei 280nm und einem in der Intensität wesentlich geringeren Maximum bei 335nm (Abb. 23). Bei den marinen Formen ist zusätzlich noch ein weiteres Absorptionsmaximum mit geringen Intensitäten bei 420nm vorhanden.

Das Absorptionsspektrum von Murein entspricht aufgrund der chemischen Verwandtschaft mit Chitin einem Chitin-Eiweiß-Gemisch, wie es in den Exoskeletten der Arthropoden und Insekten auftritt (siehe Kap. 4.3.2. und 6.6.). Diese Absorptionsspektren sind bei rezentem und fossilem Material in Abhängigkeit von der Erhaltung der Eiweiße durch das intensive Absorptionsmaximum der Proteinbindung bei 279nm geprägt (Abb. 24), weshalb die über das Protein-Signal hinausgehende Absorption bei den Cyanophyceen weiteren in die Zellhüllen eingebauten oder aufgelagerten Substanzen zuzuschreiben ist. Vor allem die Absorptionsmaxima bei 335nm und 420nm sind komplexen konjugierten Systemen zuzuordnen, während die relativ zu β -Keratin erhöhte Absorption zwischen 240nm und 260nm auch auf eine einfache, aromatische Molekülkomponente zurückgeführt werden

kann. FTIR- und ^{13}C NMR-Untersuchungen von Cyanophyceenhüllen (Chalansonnet et al., 1987) ergaben, daß die gerüstbildenden Biopolymere der Cyanophyceen wesentlich mehr ungesättigte Lipide enthalten als die der Grünalge *Botryococcus*, und daß diese Doppelbindungen in Bereichen lokalisiert sind, die leicht in polyaromatische Einheiten transformiert werden können. Es ist daher anzunehmen, daß die langwelligen Absorptionsmaxima (335nm und 420nm) auf konjugierte C=C-Doppelbindungen zurückzuführen sind.

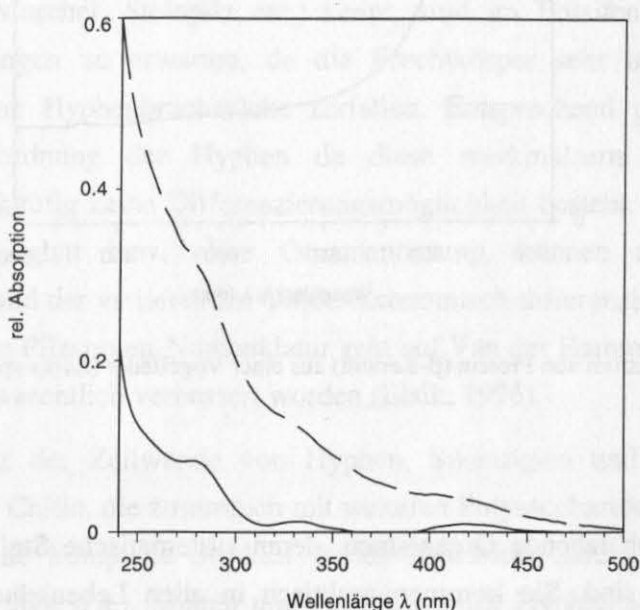


Abb. 23: Gemessenes (gestrichelte Linie) und berechnetes (durchgezogene Linie) Absorptionsspektrum von *Aphanizomenon* sp. aus holozänem Sediment der westlichen Ostsee (Probe: PO220-48-3, 60 cm). In dem berechneten Absorptionsspektrum ist das Absorptionsmaximum bei 280nm, das auf Proteinbindungen hinweist (siehe Abb. 34), deutlich zu erkennen. Die kleineren Maxima bei 335nm und 420nm weisen auf geringe Anteile von polymeren Aromaten hin.

Ob Variationen innerhalb des Absorptionsspektrums bei den Cyanophyceen taxonspezifisch sind oder auf unterschiedliche chemische Einflüsse bei der Fossilisation zurückzuführen sind, würde den Rahmen der vorliegenden Arbeit sprengen, da für fossile Cyanophyceen noch keine klare Taxonomie vorliegt und die biologische Zuordnung, die zum Beispiel auf der Farbe der Zellen oder der Zellanordnung im Zellfaden beruht, auf fossiles Material nicht angewendet werden kann. Wie bereits Van Geel et al. (1994) zeigen konnten, sind die Cyanophyceen und ihre Akineten hervorragende Indikatoren für den Nährstoffgehalt im aquatischen Milieu und zusammen mit Siedlungsanzeigern bei den Pollen ideale Proxies zur Differenzierung natürlicher und anthropogen bedingter Eutrophierung. Daß die Cyanophyceenanalyse auch an Sedimenten aus marin-brackischen Bereichen durchgeführt werden kann, zeigen die für die oben beschriebenen Absorptionsmessungen verwendeten Proben aus der westlichen Ostsee, deren detaillierte Bearbeitung aber späteren Untersuchungen überlassen werden muß.

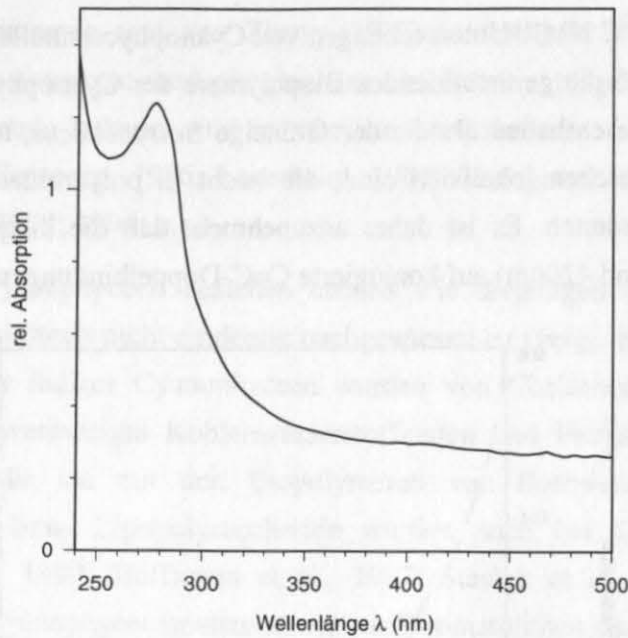


Abb. 24: Absorptionsspektrum von Protein (β -Keratin) aus einer Vogelfeder (*Larus* sp.).

6.2 Pilze

Pilze sind heterotroph lebende Organismen, deren systematische Stellung und evolutive Herkunft umstritten sind. Sie kommen praktisch in allen Lebensräumen vom marinen Milieu bis hin zu humusfreiem Gestein vor, welches sie als Pioniere in Form von Flechten besiedeln. Bei den einfachsten Pilzgruppen (Myxomycetes) handelt es sich um nackte amöboide Zellen, die sich aber im Gegensatz zu den protozoischen Amöben durch Sporen vermehren. Die meisten Pilze bilden Fäden (Hyphen), deren Gesamtheit als Mycel bezeichnet wird. Trotz der fehlenden Befähigung zur Photosynthese werden sie aufgrund ihres fädigen-thallosen Habitus in der Regel zu den Pflanzen gestellt. Von diesen unterscheiden sie sich weiterhin durch das in die Zellwände eingebaute Chitin, welches bei autotrophen Organismen in der Regel nicht vorkommt, dafür aber bei Invertebraten weit verbreitet ist.

Alle Pilze ernähren sich saprophytisch, d. h. sie benötigen organische Verbindungen für die Deckung ihres Kohlenstoff- und Energiebedarfs. Sie können nur kleine, wasserlösliche Moleküle durch ihre Zellwand aufnehmen. Die "Verdauung" der organischen Makromoleküle und Biopolymere wie Lipide, Cellulose oder Keratin erfolgt extracellulär in einem Wasserfilm zwischen der Hyphe und der Nährstoffunterlage, wodurch die Zersetzung des organischen Materials auf die unmittelbare Umgebung der Hyphe beschränkt bleibt. Die dadurch entstehenden "Pilzfraß-Spuren" sind auch an organisch-wandigen Mikrofossilien zu beobachten und für die Mikro-Absorptionsphotometrie besonders wertvoll. Da der Abbau des organischen Materials durch die Pilze über Enzyme

erfolgt, also substanzspezifisch ist, werden aus den organisch-wandigen Mikrofossilien nur die enzymatisch abbaubaren Verbindungen entfernt, wodurch eine differenzierte Untersuchung der jeweiligen Zusammensetzung der Wandsubstanzen der von Pilzen selektiv abgebauten Fossilien ermöglicht wird.

Fossil erhaltungsfähig sind bei den Pilzen sowohl die Hyphen als auch die Sporen. Mycelien oder komplexe Fruchtkörper, wie man sie von den Ascomyceten und Basidiomyceten (Morchel, Steinpilz etc.) kennt, sind im Fossilen nur unter extremen Erhaltungsbedingungen zu erwarten, da die Fruchtkörper sehr instabil sind und bei Belastung in kleine Hyphenbruchstücke zerfallen. Entsprechend problematisch ist die taxonomische Zuordnung der Hyphen da diese merkmalsarm sind und je nach Bruchstücksgröße häufig keine Differenzierungsmöglichkeit besteht. Die Sporen der Pilze sind überwiegend glatt bzw. ohne Ornamentierung, können aber aufgrund ihres Formenreichtums und der variierenden Größe taxonomisch differenziert werden. Die Basis der palynologischen Pilzsporen-Nomenklatur geht auf Van der Hammen (1955) zurück und ist seit dieser Zeit wesentlich verbessert worden (Elsik, 1996).

Die Grundsubstanz der Zellwände von Hyphen, Sporangien und Sporen besteht aus Cellulose und/oder Chitin, die zusammen mit weiteren Polysacchariden, Proteinen, Lipiden und Melaninen eine komplexe Struktur bilden (Bartnicki-Garcia, 1970; Grippiolo & Bonfante-Fasolo, 1984; u.a.). Sporen und zum Teil auch Hyphen sind acetolyseresistent und besitzen ein entsprechend hohes Fossilisationspotential, wodurch Chitin als dominantes Wandmaterial auszuschließen ist. Die hohe Stabilität des Wandmaterials ist nach bisherigen Erkenntnissen überwiegend auf die Lipide zurückzuführen, die von verschiedenen Autoren auch als Sporopollenin bezeichnet wurden (Furch & Gooday, 1978; Gooday et al., 1973; 1974; u.a.).

Aufgrund der chemischen Zusammensetzung der Hyphen, Sporangien und Sporen der Pilze, die, soweit in der Literatur beschrieben, von Chitin dominiert wird, wäre zu erwarten, daß das Absorptionsspektrum der Pilzwände dem der Insekten- oder Arthropodenexoskelette ähnlich ist (siehe Kap. 6.6.3). Ein dem Chitin entsprechendes Absorptionsspektrum konnte bei den bisher untersuchten Pilzen in Oberflächen- und Sedimentproben nur bei Saprolegniales (Hyphen ohne Querwände) nachgewiesen werden (Abb. 25).

Das Absorptionsspektrum vieler Hyphen, die überwiegend den Ascomyceten (Hyphen mit Querwänden) zuzurechnen sind, zeigt abweichend vom Chitin-, Murein- und Protein-Spektrum im Bereich unterhalb 250nm keine Intensitätszunahme der Absorption, was auch bei Pilzsporen zu beobachten ist (Abb. 26). Im Regelfall besitzen die bisher untersuchten Hyphen und Sporen eine relativ unstrukturierte Absorption mit einem Maximum zwischen 270nm und 380nm und eine hohe "Eigenabsorption". Die Verschiebung des Absorptionsmaximums in den langwelligeren Bereich korreliert direkt mit einer intensiveren

Braunfärbung der Hyphenwände sowie dem Verlust der Autofluoreszenz und kann auf die Zunahme von Melaninen in der Hyphenwand zurückgeführt werden.

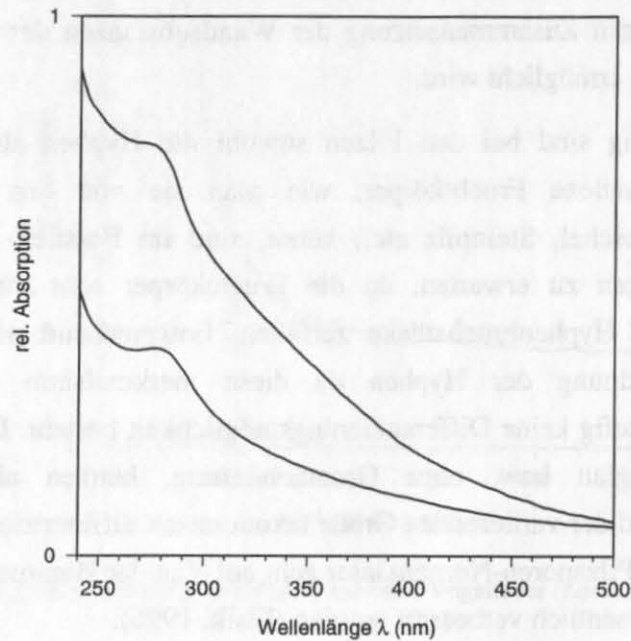


Abb. 25: Absorptionsspektren von Pilzhypen unterschiedlicher Wandstärke aus einer Oberflächenprobe der Schwentine (Mündungsbereich in Kiel), die eine deutliche Fluoreszenz aufweisen und den Saprolegniales zugeordnet werden können.

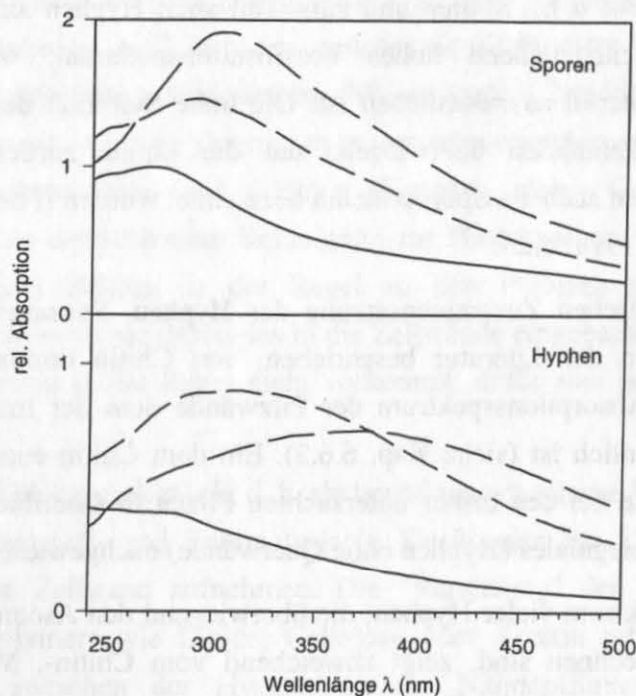


Abb. 26: Absorptionsspektren verschiedener den Ascomyceten zuordenbarer Sporen und Hyphen ohne Fluoreszenz aus einer Oberflächenprobe der Schwentine (Mündungsbereich in Kiel). Auffallend ist das Fehlen der Absorptionzunahme unterhalb 260nm, das bei Hyphen mit Fluoreszenz deutlich ausgeprägt ist (Abb. 35), und die Variationsbreite des Absorptionsmaximums oberhalb 260nm.

6.3 Eukaryotische Algen

Die prinzipielle Einteilung der Algen inklusive der Moose und Gefäßpflanzen erfolgt nach der Chlorophyllzusammensetzung. Nur Chlorophyll a enthalten die prokaryotischen Cyanophyceen und die Rhodophyceen, Chlorophyll a und c die Heterokontophyta, Haptophyta, Eustigmatophyta, Cryptophyta und Dinophyta, und Chlorophyll a und b die Euglenophyta und Chlorophyta, zu denen außer den Algen auch die Bryophytina (Moose) und Tracheophytina (Gefäßpflanzen) gezählt werden. Die Klasseneinteilung der Algen erfolgt nach ihrer Farbe und somit nach der Pigmentzusammensetzung, worauf der Name bereits einen Hinweis gibt: Rhodophyceae - Rotalgen; Phaeophyceae - Braunalgen; Chrysophyceae - Goldalgen usw.. Weitere Kriterien für die Einteilung in Abteilungen und Klassen sind die Reservestoffe, das Vorhandensein von Geißeln, deren Bau und Anordnung und die Zellwandstoffe. Organisch-wandige Mikrofossilien bzw. fossilisierbare, gerüstbildende Biopolymere bei den Eukaryoten sind mit Ausnahme der Dinophyta nur von den Chlorophyta bekannt.

6.3.1. Dinophyceae (Pyrrhophyceae)

Die Dinophyceae sind überwiegend einzellige Flagellaten. Sie besitzen zwei Geißeln, eine Quergeißel, die sich in einer Ebene senkrecht zur Längsachse befindet, und eine Längsgeißel, die meistens nach hinten gerichtet ist. Durch die Quergeißel wird der Flagellat in Rotation versetzt, wodurch eine "torkelnde" Fortbewegungsart entsteht, die zum Namen Dinoflagellaten (gr.: δινεω = herumwirbeln, drehen)³ führte. Die Zellwand der Dinoflagellaten besteht aus Cellulose und hat die Form eines aus zwei Hälften bestehenden Panzers, der bei den meisten Arten aus polygonalen Platten aufgebaut ist. Viele Arten besitzen Trichozysten, das sind vierkantige Fäden, die ähnlich den Nesselzellen (Cnidocysten) der Quallen und Korallen bei Reizung ausgeschleudert werden. Eine weitere Charakteristik ist der Interphasenkern, der nahezu immer stark kontrahierte Chromosomen enthält und "Dinokarion" oder "Mesokarion" genannt wird. Eine Besonderheit sind auch die Chloroplasten, die von einer dreifachen Membran umhüllt sind und nicht mit dem endoplasmatischen Retikulum in Verbindung stehen.

Verschiedene Dinophyceen enthalten keine Chloroplasten und sind völlig auf heterotrophe oder parasitische Ernährung angewiesen. Ein großer Anteil der Arten, die Chloroplasten enthalten, sind in der Lage, sich sowohl heterotroph als auch autotroph zu ernähren (mixotroph). Eine weitere Besonderheit wurde von Tomas & Cox (1973a; b) entdeckt. Sie konnten zeigen, daß der Chloroplast von *Peridinium balticum* zu einer endosymbiontischen Alge gehört. Aus dieser Beobachtung leiten sie die Hypothese ab, daß alle autotrophen

³ nicht zu verwechseln mit gr. δεινο = furchtbar, schrecklich - für Dinosaurier (richtiger: Deinosaurier).

Dinophyceen ursprünglich heterotrophe Protozoen waren, die Endosymbionten aufgenommen haben, welche sekundär stark reduziert wurden. Diese These würde sowohl die dreifache Membran um die Dinoflagellaten-Chloroplasten erklären als auch die Tatsache, daß Dinoflagellaten die einzigen photosynthetisierenden Organismen mit der Befähigung zur Biolumineszenz sind.

Dinophyceen sind praktisch in allen aquatischen Biotopen vertreten und leben sowohl planktisch als auch benthisch und endobenthisch. Sie sind zu 90% marin, weisen maximale Diversität in den Tropen auf und nehmen nach den Diatomeen den zweiten Platz in der Liste der Primärproduzenten organischer Stoffe im marinen Bereich ein. In Hochgebirgsseen können sie sogar bis zu 50% der Biomasse stellen (Pollinger, 1987; Taylor, 1987).

Fossil erhaltungsfähig sind bei den Dinophyceen nur die Zysten, die innerhalb des Lebenszyklus als Hypnozygoten entstehen. Von lebenden Dinoflagellaten ist bekannt, daß dies nur bei etwa 10% der Arten der Fall ist und daß eine Dinoflagellaten-Art mehr als einen Zysten-Typ hervorbringen kann (Dale, 1983; Evitt, 1985; Fensome et al., 1996; Tappan, 1980; Taylor, 1990; u.a.). Die Zystenbildung bei autotrophen Dinoflagellaten beginnt mit dem Abwurf der Geißeln. Während dieser ersten Phase wird Chitin an die aus Cellulose bestehenden Thekaplatten angelagert und bildet das Exospor. In einer weiteren Phase wird das Mesospor gebildet, über dessen Chemismus bisher noch keine Untersuchungen vorliegen. Abschließend wird innerhalb der Mesospor-Kapsel eine dritte Wand, das Endospor, angelegt, das aus einem als Sporopollenin, Dinosporin oder Algaenan bezeichneten Biopolymer besteht (Anderson, 1987; Fensome et al., 1996; Pfiester, 1975; Pfiester & Dürr, 1979; u.a.).

Eine selektive Erhaltung von gonyaulacoiden im Vergleich zu peridinioiden Dinoflagellatenzysten konnte zumindest in mesozoischen Sedimenten bisher nicht festgestellt werden. Vielmehr zeigte sich bei der Untersuchung von einzelnen Bänken in der Kalk-Mergel-Wechselfolge des oberen Jura von Süddeutschland, daß der Erhaltungsgrad der verschiedenen Dinoflagellatenzysten innerhalb einer Probe gleich bleibt. Dagegen schwankt die Erhaltung der jeweiligen Zystenpopulation innerhalb einer Bank erheblich. Der Erhaltungszustand der Zysten korreliert hierbei direkt mit dem Pyritgehalt der Kalke und Mergel, der wiederum auf den primären C_{org} -Gehalt der Sedimente bzw. auf die mikrobiellen Abbauraten des organischen Materials zurückgeführt werden kann (Brenner, 1988).

Ein signifikanter Unterschied in der Zystenwandsubstanz besteht jedoch zwischen den autotrophen gonyaulacoiden und peridinioiden und den heterotrophen protoperidinioiden und gymnodinioiden Dinoflagellaten (siehe Kap. 5.1.). Vor allem die fehlende Autofluoreszenz bei den Zysten der heterotrophen Dinoflagellaten schließt sowohl eine lipoid

Herkunft des Wandbaumaterials als auch Polysaccharide als dominante Substanz (z.B. Chitin) aus. Bezüglich der Farbe und des Fluoreszenzverhaltens können die Zysten der heterotrophen Dinoflagellaten mit Pilzen und Foraminiferentapeten verglichen werden, die aber eine wesentlich höhere Resistenz gegenüber Säuren und Acetolyse besitzen (siehe Kap. 6.2. und 6.5.1.).

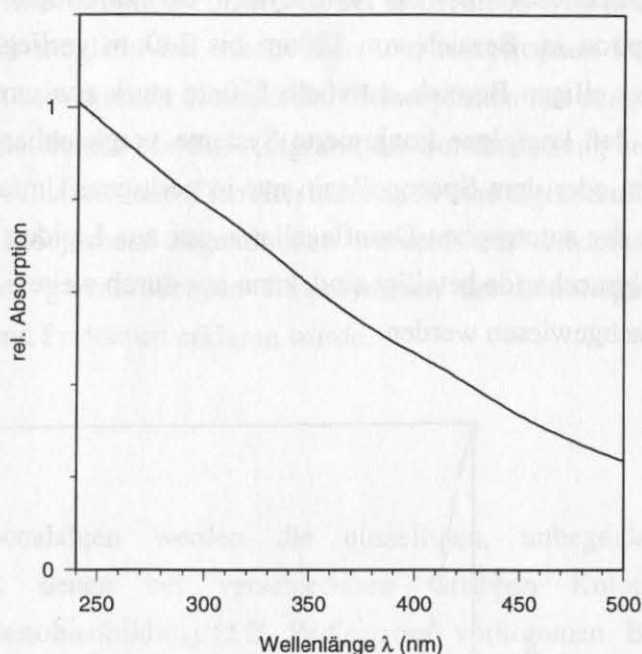


Abb. 27: Absorptionsspektrum der Zyste des heterotrophen Dinoflagellaten *Brigantedinium* sp. aus einer Oberflächenprobe der Kieler Förde (KF2-Oberfläche; siehe Kap. 7.1). Die nahezu konstante Zunahme der Absorption in Richtung der kürzeren Wellenlängen läßt vermuten, daß es sich hierbei um "Eigenabsorption" handelt und keine "molekular bedingte" Absorption vorliegt.

Das UV-VIS-Absorptionsspektrum der heterotrophen Dinoflagellatenzysten zeigt eine undifferenzierte, nahezu konstante Zunahme der Absorption in Richtung der kürzeren Wellenlängen (Abb. 27). Sie kann dahingehend interpretiert werden, daß hierbei nur "Eigenabsorption" der Zystenwand vorliegt und keine molekular bedingten Absorptionen vorhanden sind. Eine chemische Zuordnung der Zystenwand ist anhand der Absorptionsphotometrie nicht möglich, weshalb die chemische Zusammensetzung der Zystenwände heterotropher Dinoflagellaten bis heute unbekannt ist. Eine Klärung kann derzeit praktisch nur durch "klassische" chemische Analysen erfolgen, für welche die notwendige Anzahl an Zystenwänden durch aufwendige Züchtung bzw. aus Kulturen gewonnen werden muß.

Das Absorptionsspektrum der Zysten autotropher Dinoflagellaten ist nur wenig strukturiert, besitzt jedoch eine Intensitätszunahme im Bereich unterhalb 350nm mit einem schwachen Maximum zwischen 280nm und 290nm (Abb. 28), ähnlich dem Murein (Kap. 6.1.) oder

den Chitin-Protein-Komplexen bei den verschiedenen Metazoen (Kap. 6.6.). Der spektroskopische Nachweis von Carboxylgruppen durch Enaminbildung mittels Pyrrolidin (siehe Kap. 5.2.5.), welcher auch zum Nachweis von Proteinen geeignet ist (siehe Kap. 6.6.3.), blieb sowohl bei den Zysten der bisher untersuchten heterotrophen als auch bei denen der autotrophen Dinoflagellaten negativ. Eine Beteiligung von Murein oder Proteinen, aber auch von Sporopollenin sensu stricto, am Aufbau der Zystenwand ist daher weitgehend auszuschließen. Da bei den Zysten der autotrophen Dinoflagellaten eine schwache Absorption im Bereich von 270nm bis 340nm vorliegt und die Absorptionsintensität im kurzwelligen Bereich unterhalb 270nm stark zunimmt (Abb. 28), kann man davon ausgehen, daß komplexe konjugierte Systeme vergleichbar den Biopolymeren der Chlorococcalalgen oder dem Sporopollenin nur in geringem Umfang vorhanden sind. Ob die Zystenwände der autotrophen Dinoflagellaten nur aus Lipiden aufgebaut sind oder ob hier auch Lipopolysaccharide beteiligt sind, kann nur durch weitere chemische Analysen an Kulturmateriel nachgewiesen werden.

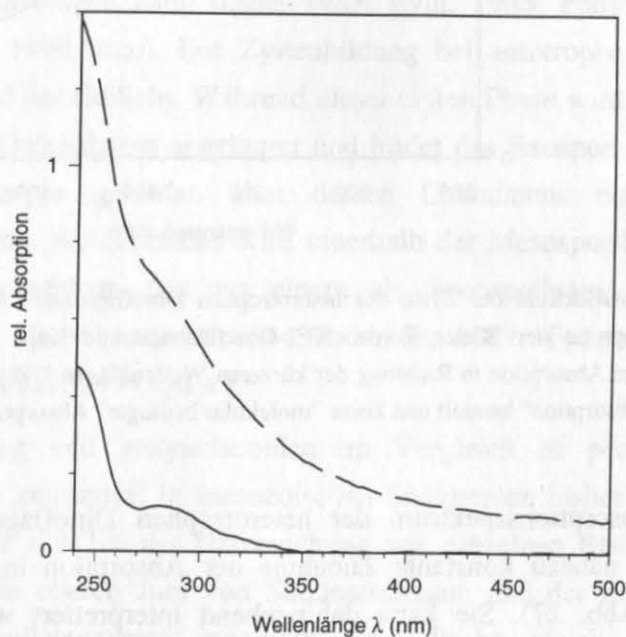


Abb. 28: Gemessenes (gestrichelte Linie) und berechnetes (durchgezogene Linie) Absorptionsspektrum der Zyste *Spiniferites bulloideus* des autotrophen Dinoflagellaten *Gonyaulax spinifera* (Probe KF2-Oberfläche). Das Absorptionsspektrum ist wenig strukturiert, zeigt aber im Gegensatz zu dem der Zysten heterotropher Dinoflagellaten eine annähernd exponentielle Zunahme in Richtung der kürzeren Wellenlänge mit einem schwach ausgeprägten Maximum bei 280nm bis 290nm und einer deutlichen Absorptionszunahme unterhalb 250nm (Erläuterung siehe Text).

Der unterschiedliche Chemismus der Zystenwände von autotrophen und heterotrophen Dinoflagellaten ist durch die unterschiedlichen Biosynthesewege der Wandsubstanz erklärbar, welche auf dem unterschiedlichen Metabolismus heterotropher und autotropher

Dinoflagellaten beruhen. Es ist anzunehmen, daß die Wandsubstanz der Zysten autotropher Dinoflagellaten aufgrund ihrer Resistenz gegenüber organischen Lösungsmitteln, Mineralsäuren und der Acetolyse, sowie die vorhandene Autofluoreszenz zumindest teilweise den Lipiden zuzurechnen ist. Es ist wahrscheinlich, daß die chemischen Grundbausteine für die Biosynthese der Zystenwandsubstanz ähnlich dem Sporopollenin der Sporen und Pollen direkt aus Zwischenprodukten bei der Photosynthese rekrutiert werden. Bei heterotrophen Formen ist der Biosyntheseweg über Photosynthese-Zwischenprodukte nicht möglich, bei autotrophen und mixotrophen Formen möglicherweise eingeschränkt, da kein direkter Kontakt des Chloroplasten mit dem Protoplasma über das endoplasmatische Reticulum besteht. Aufgrund der Sonderstellung der Dinoflagellaten im oder zwischen dem Pflanzen- und Tierreich kann auch eine eigenständige Evolution der genetisch gesteuerten Biosynthese angenommen werden, was wiederum die chemische Differenz zwischen den gerüstbildenden Biopolymeren der Dinoflagellaten gegenüber denjenigen der Algen und Protozoen erklären würde.

6.3.2. Chlorococcales

Unter den Chlorococcalalgen werden die einzelligen, unbegeißelten Grünalgen zusammengefaßt, von denen bei verschiedenen Gruppen Koloniebildung (z.B. *Botryococcus*) oder Coenobienbildung (z.B. *Pediastrum*) vorkommen. Bei verschiedenen Familien der Chlorococcales (Hydrodictyaceae, Botryococcaceae, Chlorellaceae, Coelastraceae und Scenedesmaceae) werden in die Zellwand der vegetativen Zellen Sporopollenin bzw. Algaenan (siehe Kap. 4.1.4.) eingebaut, wodurch diese fossil erhaltungsfähig sind (Atkinson et al., 1972; Brenner & Foster, 1994; Komárek & Fott, 1983; u.a.).

Die Chlorococcales leben überwiegend im Süßwasser und können dort auch als Endosymbionten bei verschiedenen wirbellosen Tieren auftreten, wie zum Beispiel bei dem Süßwasserpolyt *Chlorohydra*, dem Pantoffeltierchen *Paramecium* und bei Süßwasserschwämmen. Verschiedene Arten tolerieren eine erhöhte Salinität und sind in marinen Bereichen, die durch fluviatilen Eintrag beeinflusst werden, weit verbreitet. Im Regelfall sind die Chlorococcalalgen in marinen Bereichen zwar lebensfähig, können sich jedoch ab einem bestimmten Salzgehalt nicht mehr vermehren, was auf die Hemmung der Zellteilung durch Chloridionen zurückgeführt werden kann (Latala, 1991). Für *Pediastrum boryanum* zum Beispiel liegt dieser Schwellenwert der Vermehrung bei ca. 10 PSU ($\equiv \text{‰}$). Bei geringfügig niedrigerer Salinität (6-8 PSU) sind sie jedoch bereits in der Lage Blüten zu bilden, was auf optimale Bedingungen für diese Art hinweist (Brenner & Foster, 1994; Latala, 1991; Matthiessen & Brenner, 1996).

Auf der Basis der Physiologie der rezenten Vertreter und des Fossilberichts der Chlorococcalalgen können die fossilen Formen in drei Gruppen zusammengefaßt werden:

1.) Hydrodictyaceae:

Die Vermehrung bei dieser Grünalgen-Familie erfolgt durch begeißelte Sporen (Zoosporen). Die Zellwände enthalten außer Biopolymeren auch Silikat (Millington & Gawlik, 1967). Die Formation neuer Coenobien bei der Vermehrung findet bei der Gattung *Pediastrum* außerhalb der Mutterzelle in einem Vesikel statt. Bei der zweiten Gattung *Hydrodictyon* werden die Tochterkolonien innerhalb der Mutterzelle gebildet. Die jungen Autokolonien werden durch Verschleimen der Mutterzellwand frei, die dadurch nicht mehr erhaltungsfähig ist. Fossil bekannt sind daher nur die aus den vegetativen Zellen aufgebauten Coenobien von *Pediastrum* (Brenner & Foster, 1994; Komárek & Fott, 1983; Moner & Chapman, 1963; u.a.). Die Zuordnung von *Tetraëdron*, einer einzelligen Grünalge, die zum Beispiel in den eozänen Ölschiefern von Messel gesteinsbildend auftritt (Goth et al., 1988; Püttmann & Goth, 1988), ist umstritten, da bei verschiedenen Arten sowohl Autosporen als auch Zoosporen gefunden wurden (Batten, 1996; Hindák, 1977; Kovácik, 1975; u.a.).

Die ältesten Pediastren sind aus der Unterkreide beschrieben (Batten & Lister, 1988; Evitt, 1963) und können mit wenigen Ausnahmen direkt lebenden Arten zugeordnet werden (Batten, 1996; Chu et al., 1978; Wilson & Hoffmeister, 1953; u.a.). Das Absorptionsspektrum der rezenten und fossilen Pediastren-Zellwände zeigt durch sein Absorptionsmaximum bei 287nm und ein Absorptionsminimum bei 250nm bis 260nm eine auffallende Ähnlichkeit mit den Absorptionsspektren von Pollen und unterscheidet sich dadurch von den Absorptionsspektren anderer Algen (Abb. 29). Eine direkte chemische Verwandtschaft der *Pediastrum*-Zellwandbiopolymere und dem Pollen-Sporopollenin kann daraus jedoch nicht abgeleitet werden, da ähnliche Absorptionsspektren durch unterschiedliche Kombination von chromophoren Gruppen in einem konjugierten System entstehen können. Hinzu kommt, daß bei den Absorptionsspektren von *Pediastrum* ein weiteres Absorptionsmaximum mit geringer Intensität bei 340nm vorhanden ist, welches bei Pollen bisher nicht festgestellt werden konnte. Einen eindeutigen Nachweis, daß die chemische Zusammensetzung der Wandsubstanz der Pediastren von der des Sporopollenin differiert, erhält man durch eine histochemische Kombinationsfärbung mit Malachitgrün[®] und Safranin O[®] (Brenner, unpubl.), bei der das Pollen-Sporopollenin eine violette Färbung annimmt, die Zellwände von *Pediastrum* dagegen ungefärbt bleiben. Ein auffallendes Merkmal der Pediastren-Zellwände ist die extreme Stabilität der Biopolymere, da auch an holozänem Material aus der westlichen Ostsee im Gegensatz zu faziesabhängigen Veränderungen bei den Pollen (siehe Kap. 7) keine signifikante Änderung der Absorptionsspektren festgestellt werden konnte. Es ist aber nicht auszuschließen, daß zumindest ein ähnliches Grundgerüst bei Pollen-Sporopollenin und der Wandsubstanz der Pediastren vorhanden ist. Dies kann dahingehend interpretiert werden, daß sowohl im Pollen-Sporopollenin als auch in den Wand-Biopolymeren der Pediastren konjugierte

Systeme mit gleichen Absorptionsbereichen vorhanden sind, die gleichzeitig zu den chemisch stabilsten Teilen des Moleküls gehören. Ob Grundstrukturen des *Pediastrum*-Biopolymers und des Sporopollenins ähnlich sind oder auf einem gemeinsamen Biosyntheseprinzip beruhen, kann aber nur durch weitere umfangreiche Untersuchungen, nicht nur an *Pediastrum*, sondern auch an Pollen geklärt werden, da die Sporopolleninstruktur bis heute kontrovers diskutiert wird (siehe Kap. 4.1.5.).

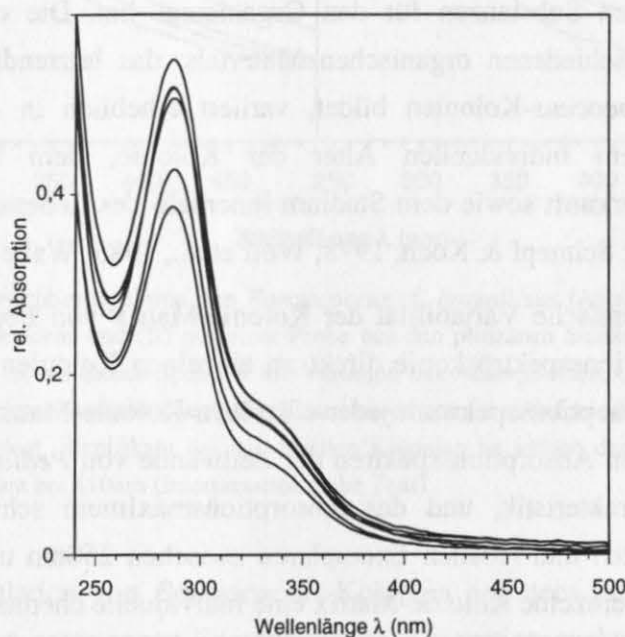


Abb. 29: Variation der Absorptionsspektren von *Pediastrum boryanum*, die auf die unterschiedliche Wandstärke der einzelnen gemessenen Individuen zurückzuführen ist (Oberflächenprobe aus dem Greifswalder Bodden). Die Absorptionsminima und -maxima sind in allen Spektren identisch verteilt, was auf eine Wandsubstanz mit chemisch gleicher Struktur bei den verschiedenen Exemplaren hinweist.

2.) Botryococcaceae:

Die rezenten Vertreter der Gattung *Botryococcus* vermehren sich durch unbegeißelte Autosporen. Fossile Algen mit einer dem rezenten *Botryococcus* vergleichbaren Morphologie sind vor allem aus dem Paläozoikum beschrieben, wo sie zum Teil gesteinsbildend auftreten (Batten & Grenfell, 1996; Guy-Ohlson, 1992; Tappan, 1980; u.a.). Die Zellwände der vegetativen Zellen von *Botryococcus* bestehen nicht wie bei vielen anderen Chlorococcalalgen (*Pediastrum*, *Scenedesmus* etc.) aus einem fossilisierbaren Biopolymer, sondern aus Polysacchariden, die in der Regel nicht erhaltungsfähig sind. Fossil erhaltungsfähig dagegen ist die Grundmatrix der Kolonie. Diese entsteht aus der Zellwand der Mutterzelle, die nach dem Aufplatzen bei der Vermehrung verschleimt. Die Tochterzellen verbleiben dabei in der Schleimmatrix, die durch bisher unbekannte chemische Prozesse stabilisiert wird und dadurch fossil überliefert werden kann. Nach

mehreren Zellteilungen bildet diese Matrix blumenkohlartige oder verzweigte Strukturen. Eine Besonderheit, die *Botryococcus* von allen anderen Algen unterscheidet, ist die extrazelluläre Speicherung von Öl in der Koloniematrix, worauf sich die Bezeichnung "Ölalge" begründet. Die Organisation der Zelle von *Botryococcus* gleicht der anderer coccaler Grünalgen. Am Feinbau des Protoplasten ist jedoch keine Besonderheit zu erkennen, die mit der exzessiven Lipidproduktion in Zusammenhang gebracht werden kann. Es ist bisher nicht bekannt, welche Bedeutung diese starke Ausscheidung von Öl und anderen organischen Substanzen für den Organismus hat. Die chemische Zusammensetzung des ausgeschiedenen organischen Materials, das letztendlich die fossilisierbare Matrix der *Botryococcus*-Kolonien bildet, variiert erheblich in Abhängigkeit von der Lichtintensität, dem individuellen Alter der Kolonie, dem Nährstoffangebot, der geographischen Herkunft sowie dem Stadium innerhalb des Lebenszyklus (Belcher, 1968; Guy-Ohlson, 1992; Schnepf & Koch, 1978; Wolf et al., 1985; Wake & Hillen, 1981; u.a.).

Diese extreme chemische Variabilität der Kolonie-Matrix von *Botryococcus* kann durch die Mikro-Absorptionsspektroskopie direkt an einzelnen Kolonien nachgewiesen werden (Abb. 30). Das Absorptionsspektrum jeder einzelnen Kolonie-Matrix besitzt im Gegensatz zu den einheitlichen Absorptionsspektren der Zellwände von *Pediastrum* (vergl. Abb. 29) seine eigene Charakteristik, und das Absorptionsmaximum schwankt bei den bisher gemessenen rezenten und fossilen Exemplaren zwischen 250nm und 310nm. Dies zeigt, daß praktisch jede einzelne Kolonie-Matrix eine individuelle chemische Zusammensetzung hat, die primär durch die Ausscheidung von verschiedenen organischen Substanzen der vegetativen Zellen unter kleinräumig und kurzzeitig variierenden Umweltbedingungen gesteuert wird. Die chemische Konstanz der stabilen Biopolymere bei *Pediastrum* weist dagegen eher auf eine genetische Steuerung bei der Biosynthese hin. Zudem ist bei *Botryococcus* innerhalb der Kolonie-Matrix mit abiotischen, autochemischen Reaktionen (Selbstorganisation) zwischen den verschiedenen chemischen Substanzen zu rechnen. Diese werden ihrerseits wiederum durch verschiedene Umweltparameter wie zum Beispiel Salinität, Temperatur und Nährstoffangebot gesteuert. Hinzu kommt, daß vor allem die Kolonie-Matrix im Sediment noch weiteres organisches Material aus Abbauprodukten anderer Organismen aufnimmt und dieses in den autochemischen Prozeß mit einbezogen wird, was auch Knicker et al. (1996) aufgrund von Isotopenuntersuchungen an rezenten und fossilen Algen vermuten. Diese extreme Vielfalt der organischen Verbindungen in der Kolonie-Matrix (nicht Zellwand!) von *Botryococcus* erklärt die teilweise differierenden Ergebnisse bei der chemischen Analyse verschiedener *Botryococcus*-Kulturen und fossilen Anreicherungen sowie das häufige Auffinden neuer Verbindungen (Behar et al., 1995; Derenne et al., 1991; 1992; 1994; Mastalerz & Hower, 1996; Metzger, et al., 1990; Metzger & Largeau, 1993; u.a.).

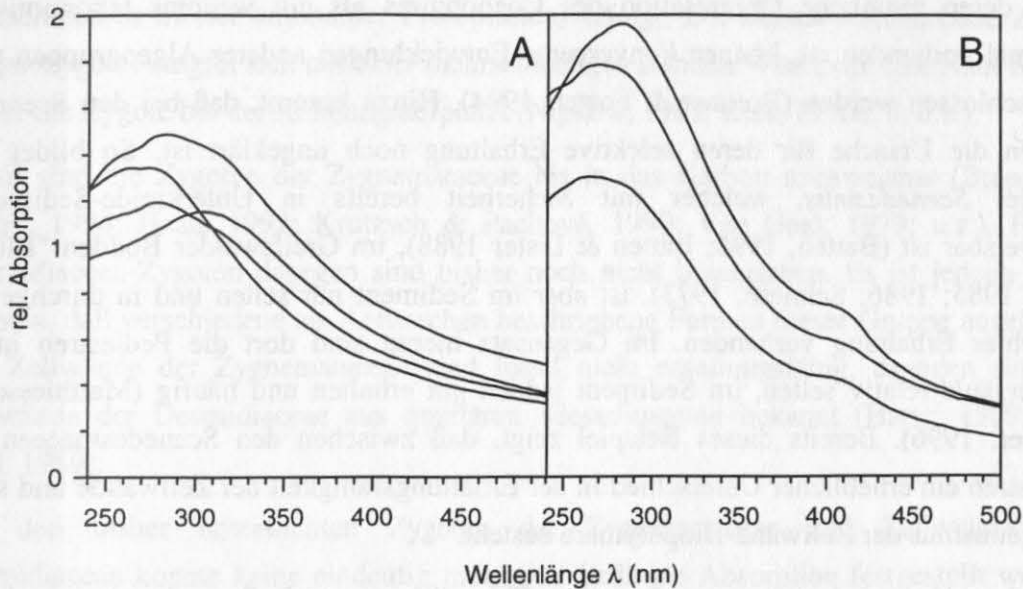


Abb. 30: Variation der Absorptionsspektren von *Botryococcus* cf. *braunii* aus (A) einer Oberflächenprobe des Greifswalder Boddens und (B) aus einer Probe aus den pliozänen Seesedimenten von Willershausen. Auffallend ist bei diesen Spektren die Variation des Absorptionsmaximums von 265nm bis 310nm, was eine unterschiedliche chemische Zusammensetzung der Kolonie-Matrix bei unterschiedlichen Kolonien belegt. Signifikant bei den fossilen Kolonien ist jedoch das schwach ausgeprägte Absorptionsmaximum bei 410nm (Interpretation siehe Text).

In einer fossilen Population von *Botryococcus*-Kolonien aus dem Pliozän von Willershausen konnte bei allen gemessenen Exemplaren im Absorptionsspektrum ein konstantes Signal in Form eines schwachen, aber gut ausgeprägten Absorptionsmaximums bei 410nm nachgewiesen werden (Abb. 30B). Das konstante Auftreten dieses Absorptionsmaximums, das auf komplexe konjugierte Verbindungen hinweist, wie sie zum Beispiel polymeren Aromaten oder Karotinoiden, kann als Umweltsignal interpretiert werden, da alle untersuchten Kolonien dieselbe komplexe organische Verbindung eingebaut haben. Denkbar wäre zum Beispiel, daß es sich bei den fossilen Kolonien um die Relikte einer "Sommerblüte" von *Botryococcus* handelt, bei der aufgrund der hohen Lichtintensität Karotinoide oder Chlorophyllabbauprodukte (z.B. Porphyrin) in die Kolonie-Matrix eingebaut wurden (Belcher, 1968; Schnepf & Koch, 1978; Wolf et al., 1985).

3.) Chlorellaceae (monadal), Coelastraceae und Scenedesmaceae (coenobial):

Die Individuen dieser drei Algen-Familien vermehren sich durch Autosporen und bauen in die Zellwand der vegetativen Stadien ebenso wie die Pediastron fossilisierbare Biopolymere ein. Die Zuordnung fossiler vor allem einzelliger paläozoischer und mesozoischer Formen zu diesen Familien ist in vielen Fällen problematisch, da diese Taxa merkmalsarm sind und eine systematische Differenzierung nach biologischen Kriterien erfolgt, die im Regelfall an fossilem Material nicht nachgewiesen werden können. Auch bei coenobialen

Taxa, deren räumliche Organisation des Coenobiums als ein weiteres taxonomisches Merkmal vorhanden ist, können konvergente Entwicklungen anderer Algengruppen nicht ausgeschlossen werden (Brenner & Foster, 1994). Hinzu kommt, daß bei den Scenedesmaceen die Ursache für deren selektive Erhaltung noch ungeklärt ist. So bildet zum Beispiel *Scenedesmus*, welcher mit Sicherheit bereits in Unterkreide-Sedimenten nachweisbar ist (Batten, 1996; Batten & Lister 1988), im Greifswalder Bodden "Blüten" (Kell, 1985; 1986; Schnese, 1973), ist aber im Sediment nur selten und in durchgehend schlechter Erhaltung vorhanden. Im Gegensatz hierzu sind dort die Pediastron in der Wassersäule relativ selten, im Sediment jedoch gut erhalten und häufig (Matthiessen & Brenner, 1996). Bereits dieses Beispiel zeigt, daß zwischen den Scenedesmaceen und Pediastron ein erheblicher Unterschied in der Erhaltungsfähigkeit der Zellwände und somit im Chemismus der Zellwand-Biopolymere besteht.

Bisherige Untersuchungen an rezenten Chlorellaceen und Scenedesmaceen lassen vermuten, daß die Erhaltungsfähigkeit der verschiedenen Arten primär auf genetisch bedingte Variationen bei verschiedenen Stämmen innerhalb einer Art zurückzuführen ist. Atkinson et al. (1972) fanden heraus, daß das in der "biologischen Literatur" allgemein als Sporopollenin bezeichnete resistente Biopolymer nur bei einzelnen Stämmen derselben Algenart mit einer trilamellären Zellwand und mit der Fähigkeit zur Produktion von sekundären Karotinoiden vorkommt. Diese werden in der Regel unter Stickstoffmangelbedingungen produziert, was durch Untersuchungen weiterer Autoren bestätigt wurde (Burczyk & Hesse, 1981; Czygan, 1968; Kessler, 1984; u.a.). Anhand von Pyrolyse und ^{15}N NMR-Untersuchungen konnten Derenne et al. (1992; 1993) nachweisen, daß auch Stickstoff in die resistenten Zellwände von *Chlorella* und *Scenedesmus* eingebaut wird. Da die Bildung von sekundären Karotinoiden nur unter Stickstoffmangelbedingungen erfolgt, wodurch vermutlich auch der Einbau von Stickstoff in die Zellwand beeinflusst wird, ist nicht auszuschließen, daß auch die Zusammensetzung der Nährstoffe Einfluß auf die Zellwandchemie der Chlorellaceen und Scenedesmaceen hat, und daß dadurch die Erhaltungsfähigkeit im Sediment beeinflusst wird.

6.3.3. Zygnematales

Die Grünalgen dieser Ordnung bestehen aus unverzweigten Fäden (Familie Zygnemataceae) oder sind einzellig und aus zwei gleichen Hälften aufgebaut (Familie Desmidiaceae). Sie leben überwiegend im Süßwasser, einige Arten der Zygnemataceae dringen aber auch in den Brackwasserbereich vor. Die Desmidiaceae kommen hauptsächlich in oligotrophen Seen mit einem niedrigen pH-Wert (<6) vor und sind daher gute ökologische Indikatoren. Die Zygnematales unterscheiden sich von den anderen Grünalgen vor allem durch die geschlechtliche Fortpflanzung, die durch Konjugation

(Verschmelzen zweier amöboider Protoplasten) erfolgt. Die daraus resultierende Zygote (Hypnozygote) umgibt sich mit einer mehrschichtigen stabilen Wand, die eine Naht besitzt, an der die Zygote bei der Keimung aufplatzt (Nipkow, 1962; Kies, 1970a; b; u.a.).

Fossil sind die Zygoten der Zygnemataceae bis in das Karbon nachweisbar (Brenner & Foster, 1994; Head, 1992; Krutzsch & Pacltová, 1990; Van Geel, 1979; u.a.). Fossile Desmidiaceen-Zygoten dagegen sind bisher noch nicht beschrieben. Es ist jedoch anzunehmen, daß verschiedene als Acritarchen beschriebene Formen dieser Gruppe angehören. Die Zellwände der Zygnemataceae sind fossil nicht erhaltungsfähig, dagegen sind die Zellwände der Desmidiaceae aus quartären Seesedimenten bekannt (Hartz, 1909; Van Geel, 1989).

Bei den bisher untersuchten Zygoten der Zygnemataceae und Zellwänden der Desmidiaceae konnte keine eindeutig molekular bedingte Absorption festgestellt werden. Vielmehr ist eine nahezu kontinuierliche Zunahme der Absorptionsintensität zu den kürzeren Wellenlängen hin zu verzeichnen, die auf "Eigenabsorption" zurückgeführt werden kann (Abb.31). Dies bedeutet, daß in den Biopolymeren der Zellwände der Desmidiaceae keine komplexen konjugierten Systeme, vergleichbar mit denen der Chlorococcalalgen oder der Sporen und Pollen, vorhanden sind. Die gerüstbildenden Biopolymere der Zygnematales können analog zu denen der Zysten von Dinoflagellaten weder mit Sporopollenin noch mit Algaenan verglichen werden und sind vermutlich einer eigenen Stoffgruppe zuzuordnen.

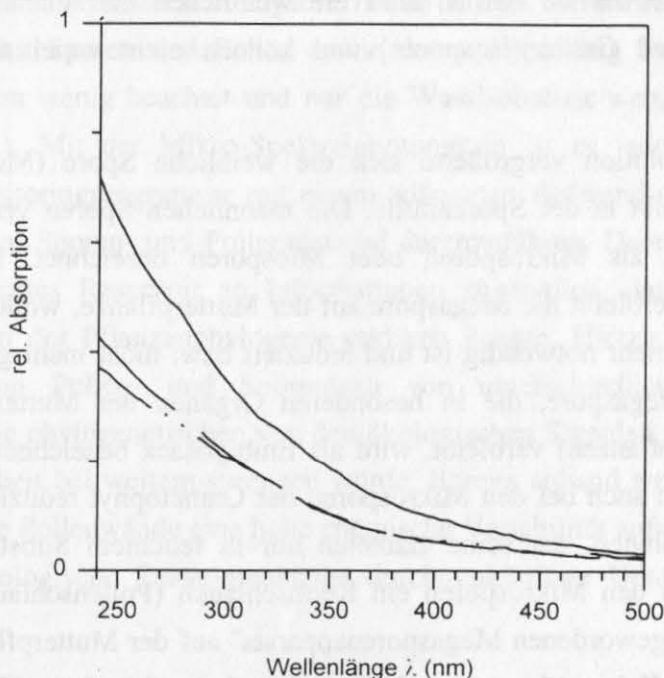


Abb. 31: Variation der Absorptionsspektren von *Cosmarium* spp. aus postglazialen Süßwassersedimenten der Kieler Bucht (Probe PO 220-48-3, 260 cm).

6.4. Phytoklasten

Als Phytoklasten werden im allgemeinen disperse fossile Organe oder Organteile der Pflanzen bezeichnet, die in organischer Substanz erhalten sind. Von diesen zeichnen sich durch ihr hohes Fossilisationspotential die Sporen, Pollen und Kutikulen aus. Holzfragmente und einzelne Tracheiden haben eine geringere chemische und biologische Stabilität, sind jedoch in terrestrisch beeinflussten Sedimenten häufig vorhanden.

6.4.1 Sporen und Pollen

Sporen und Pollen sind durch Membranen nach außen hin geschützte Dauerstadien im Lebenszyklus der Pflanzen, wobei die Mutterpflanze die diploide Generation (Sporophyt; $2n$ -Generation) und die Sporen/Pollen die haploide Generation (Gametophyt; n -Generation) repräsentieren. Im Lauf der Evolution (Moose-Farne-Samenpflanzen) erfolgte ein Wandel in der Dominanz der beiden Generationen. Bei den Moosen wird der Gametophyt von der eigentlichen grünen Moospflanze repräsentiert, und der Sporophyt besteht nur aus einem kürzer oder länger gestielten, chlorophyllfreien Sporenbehälter (Sporogon). Bei den Farne dagegen ist der Gametophyt stark reduziert, und die eigentliche Farnpflanze mit Wurzeln, Stamm und Blättern wird ebenso wie bei den Samenpflanzen vom Sporophyten gebildet. Entsprechend der Reduktion des Gametophyten verändern sich auch die Sporen, und es entsteht ein ausgeprägter Sexualdimorphismus. Bei den Moosen und einfachen Farne sind die weiblichen und männlichen Sporen von gleicher Gestalt und Größe (Isosporen) und können nicht voneinander unterschieden werden.

Im Laufe der Evolution vergrößerte sich die weibliche Spore (Megaspore), und der Gametophyt verbleibt in der Sporenhülle. Die männlichen Sporen verändern ihre Größe nicht und werden als Mikrosporen oder Miosporen bezeichnet. In einem weiteren Evolutionsschritt verbleibt die Megaspore auf der Mutterpflanze, wodurch die schützende Sporenhülle nicht mehr notwendig ist und reduziert bzw. nicht mehr gebildet wird. Diese stark reduzierte Megaspore, die in besonderen Organen der Mutterpflanze (weibliche Blüten der Samenpflanzen) verbleibt, wird als Embryosack bezeichnet. Parallel zu dieser Entwicklung wurde auch bei den Mikrosporen der Gametophyt reduziert. An Stelle eines thallosen Gametophyten, der seine Gameten nur in feuchtem Substrat entlassen kann, entwickelt sich bei den Mikrosporen ein Keimschlauch (Pollenschlauch), der direkt zur Eizelle des "sessil gewordenen Megasporenapparats" auf der Mutterpflanze vordringt. Die Entwicklung des Keimschlauches erfordert die Anlage von spezifischen Öffnungen (Keimstellen, Aperturen; z.B. Colpi, Poren) in der starren Sporenhülle. Mikrosporen mit entsprechenden Keimstellen werden als Pollen bezeichnet. Die Trennung von Sporen und

Pollen ist somit rein biologisch bedingt und kann anhand morphologischer Kriterien bei fossilen Formen nicht immer durchgeführt werden, da viele Übergangsformen nicht eindeutig zugeordnet werden können.

Durch Anpassung an unterschiedliche ökologische Bedingungen und Verbreitungsmodi während der Evolution erfolgt außer der Entwicklung neuer Aperturen auch eine Modifikation der Sporen- und Pollengestalt. So entstehen zum Beispiel Flugorgane wie Flügel oder Luftsäcke und bei Tierverbreitung Haftorgane oder klebende Substanzen (Pollenkitt) um eine weitere Verbreitung zu ermöglichen. Diese morphologischen Veränderungen der Sporen und Pollen erfolgen meist unabhängig von denen der Mutterpflanze, da der Sporophyt selbst am selben Standort von anderen Einflüssen abhängig ist. Im Großen und Ganzen sind die Sporen und Pollen an gleichförmigere Bedingungen angepaßt als der Sporophyt, was dazu führt, daß Sporen und Pollen ihre Gestalt länger beibehalten, also eine langsamere Evolutionsgeschwindigkeit besitzen als der Sporophyt. Andererseits können die Sporen und Pollen Anregung zur Änderung erfahren, während der Sporophyt konstant bleibt. Diese unabhängige Evolution der Sporophyten- und Gametophytengeneration, die Potonié (1956) im Satz von der Inkongruität der Organe formuliert, kann bei der Untersuchung von phylogenetischen Zusammenhängen hilfreich sein, ist aber auch kritisch zu bewerten, da funktionsmorphologische Anpassungen auch zu konvergenten Entwicklungen führen können.

Nicht zuletzt aufgrund der z.T. kontroversen Diskussion des Sporopollenins und der zeit- und kostenintensiven chemischen Analyseverfahren wurde die chemische Evolution der Wandsubstanzen der Sporen und Pollen sowie deren Anpassung an die verschiedenen Umweltbedingungen wenig beachtet und nur die Wandsubstanz weniger Taxa analysiert (siehe Kap. 4.1.5.). Mit der Mikro-Spektralphotometrie ist es jedoch möglich, selbst umfangreiche Monitoringprogramme mit einem adäquaten Aufwand sowohl an rezentem als auch an fossilem Sporen- und Pollenmaterial durchzuführen. Dadurch wird ein bisher noch unausgeschöpftes Reservoir an Informationen zugänglich, das viele bisher noch ungelöste Rätsel in der Pflanzenphylogenie erklären könnte. Hierzu wird es notwendig sein, hunderte von Pollen- und Sporentaxa von unterschiedlichen Standorten zu untersuchen, um die phylogenetischen von den ökologischen Signalen zu trennen, was den Rahmen dieser Arbeit bei weitem sprengen würde. Bereits anhand weniger Beispiele läßt sich zeigen, daß die Pollenwände eine hohe chemische Variabilität aufweisen, deren detaillierte evolutionsbiologische Zusammenhänge durch zukünftige Untersuchungen geklärt werden können.

Wie bereits in Kapitel 5.2. aufgezeigt, kann das Absorptionsspektrum in fünf Spektralbereiche aufgeteilt werden (Abb. 13), in denen die Absorptionsintensität bei *Pinus*-Pollen je nach chemischer Veränderung des Sporopollenins variiert. Als primäres

Klassifikationsmerkmal für die Sporopolleninchemie kann die Variation des Absorptionsmaximums zwischen dem Spektrbereich II (270nm bis 300nm) und dem Spektrbereich III (300nm bis 340nm) verwendet werden, die zwischen den verschiedenen Taxa praktisch kontinuierliche Übergänge zeigen. Zum Beispiel ist das Absorptionsmaximum bei *Pinus*-Pollen im Spektrbereich III bei 314nm und bei *Taxus*-Pollen eindeutig im Spektrbereich II bei 286nm, während bei den Pollen von *Cycas* eine annähernd gleiche Verteilung der Absorption in beiden Spektrbereichen vorliegt (Abb. 32). Ein markantes Signal bildet das Absorptionsmaximum mit geringerer Intensität im Spektrbereich IV bei 370nm bis 400nm, das ohne bisher erkennbare systematische oder phylogenetische Zuordnung bei unterschiedlichen Pollen aus verschiedenen Familien vorhanden ist. Ebenso kann aus der Intensität des Absorptionsmaximums in den Spektrbereichen II und III keine phylogenetische Entwicklung erkannt werden, da praktisch alle Variationsmöglichkeiten der Absorptionsmaximaverteilung in den verschiedenen Unterabteilungen und Klassen der Gymnospermen vorkommen können.

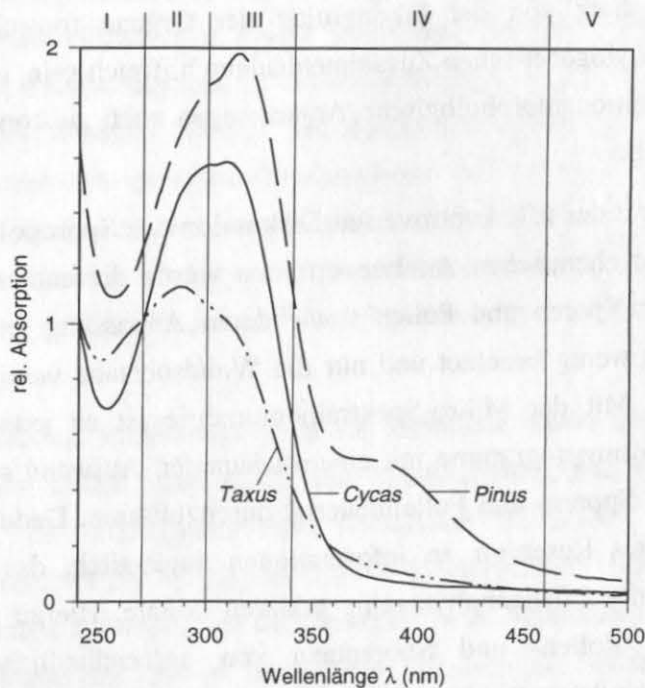


Abb. 32: Absorptionsspektren von rezenten Gymnospermenpollen. Die stark differierenden Absorptionsintensitäten vor allem in den Spektrbereichen II bis IV zeigen eindeutig, daß die Pollenwandsubstanz bei den verschiedenen Gattungen eine unterschiedliche chemische Struktur aufweist.

Im Gegensatz zum "Pollenin" der Gymno- und Angiospermen, bei dem ein konstantes Signal bei 314nm auftritt, sind bei dem "Sporin" der Sporen auch längerwellige Absorptionsmaxima vorhanden. Diese deuten auf eine komplexe Chemoevolution des "Sporins" hin, deren Entschlüsselung noch ein weites Feld für zukünftige Untersuchungen sein wird.

So läßt sich zum Beispiel bei *Equisetum* (Abb. 33-1) ein zusätzliches Absorptionsmaximum bei 320nm und bei der Exine von *Dryopteris* ein Maximum bei 325nm nachweisen (Abb. 33-2). Das Absorptionsspektrum des Perispor von *Dryopteris* (Abb. 33-4), das die Sporenexine als eine faltige Membran umgibt, ist unstrukturiert mit einem Maximum im Bereich zwischen 300nm und 350nm und kann bisher keiner Wandsubstanz eindeutig zugeordnet werden.

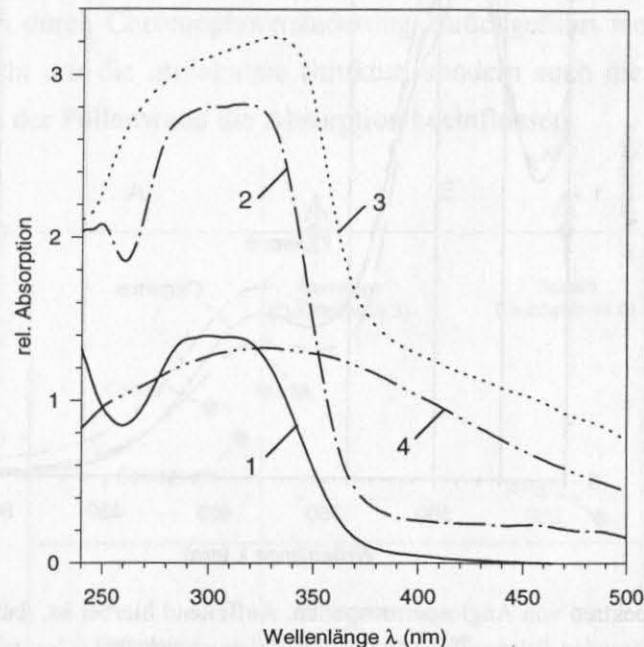


Abb. 33: Absorptionsspektren der Exinen von (1) Schachtelhalmsporen (*Equisetum arvense*) und (2) Farnsporen (*Dryopteris filix-mas*). Im Gegensatz zu den Pollen, bei denen sich das Absorptionsmaximum 314nm im Spektralbereich III lediglich durch seine Absorptionsintensität unterscheidet, sind bei den Sporen auch weitere Absorptionsmaxima wie z.B. 325nm bei *Dryopteris* nachzuweisen. Dies läßt vermuten, daß bei der Pollenwandsubstanz überwiegend die quantitative Verteilung der konjugierten Systeme variiert, während bei den Wandsubstanzen der Sporen auch die konjugierten Systeme unterschiedlich sind, was einen erheblichen chemischen Unterschied zwischen Sporen und Pollen belegt. Das Absorptionsspektrum von *Dryopteris* mit Perispor (3) zeichnet sich durch die Intensitätszunahme oberhalb 330nm aus, die auf die hohe Absorptionsintensität des Perispor (4) in diesem Bereich zurückzuführen ist.

Trotz der großen Variationsbreite der Absorptionsspektren bzw. der Sporopolleninchemie bei den verschiedenen systematischen Gruppen der Pflanzen kann von einer chemischen Konstanz oder zumindest einer starken Ähnlichkeit bei nahe verwandten Taxa ausgegangen werden. So besitzen zum Beispiel alle bisher untersuchten Taxa der Ordnung Fagales, die sich unter anderem durch einhäusige Blüten mit kätzchenartigen Blütenständen auszeichnen, ein ausgeprägtes Absorptionsmaximum im Spektralbereich II und ein weiteres mit geringer Intensität im Spektralbereich IV (Abb. 34). Im Spektralbereich III ist nur bei *Carpinus* eine Intensitätsdifferenzierung festzustellen, die auf eine geringere

Intensität der Bande bei 314nm hinweist, während bei *Alnus* und *Quercus* die beiden Banden 286nm und 314nm nicht mehr getrennt sind (siehe Kap. 2.3. und Abb. 3).

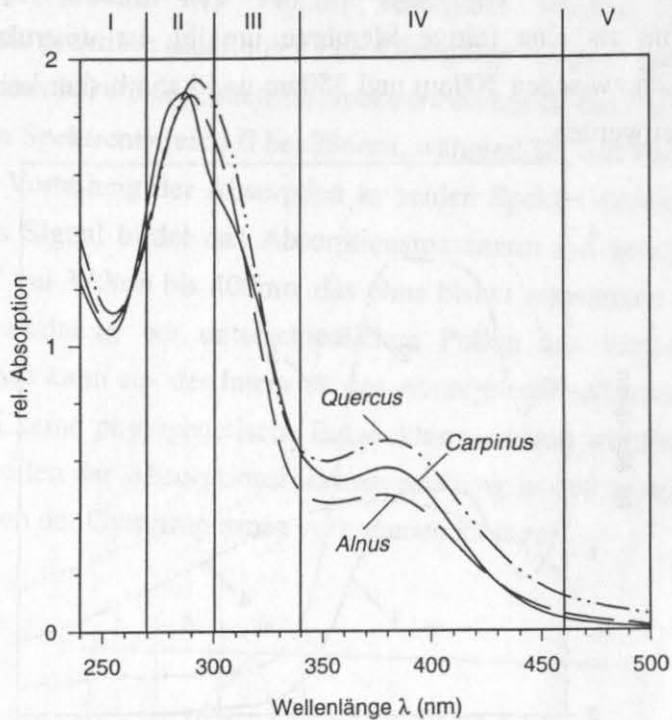


Abb. 34: Absorptionsspektren von Angiospermenpollen. Auffallend hierbei ist, daß die Spektren der zu den Betulaceen gehörenden Erlenpollen (*Alnus*) und Hainbuchenpollen (*Carpinus*) im Spektrenbereich II und III wesentlich stärker untereinander differieren als die Spektren der zu den Fagaceen gehörenden Eichenpollen (*Quercus*) und Erlenpollen.

Anhand des Index-Quotienten-Diagramms (siehe Kap. 3.3; Abb. 9) ist es möglich, eine größere Anzahl von Absorptionsspektren und deren Absorptionsmaxima miteinander zu vergleichen, was eine direkte Korrelation und Systematisierung der Spektren erlaubt (Abb. 35). Bei dieser Darstellung liegen im Quadrantenbereich "A" die Spektren, deren Absorptionsmaximum im Spektrenbereich III (300nm-340nm) liegen, und im Quadrantenbereich "B" diejenigen mit einem Absorptionsmaximum im Spektrenbereich II (270nm-300nm). In den Quadranten "AIII" und "BIII" werden die Spektren erfaßt, welche ein zusätzliches Absorptionsmaximum im Spektrenbereich IV (340nm-460nm) besitzen, die Quadranten "AI" bis "BII" entsprechen den Spektren, bei denen dieses Maximum fehlt. Anhand der Quadrantenbereiche "I" und "II" werden die relativen Verhältnisse der Absorptionsintensität des Sporopollenins zur "Eigenabsorption" dargestellt, wobei der Quadrantenbereich "II" die Spektren mit relativ hoher "Eigenabsorption" und der Quadrantenbereich "I" diejenigen mit relativ niedriger "Eigenabsorption" enthält. Diese ist nicht nur von der Dicke der Sporen-/Pollenwand abhängig, sondern wird auch von deren "optischer Dichte" beeinflusst. Die Veränderung der "Eigenabsorption" bei gleichzeitiger Massenkonstanz der Pollenwand kann direkt durch die Veränderung der Sporopollenin-

chemie, zum Beispiel durch Pyrrolidin-Behandlung am Sporopollenin von *Pinus*- oder *Typha*-Pollen, belegt werden (siehe Kap. 5.2.5; Abb. 21b und Abb. 36). In beiden Fällen steigt die "Eigenabsorption" im Spektrenbereich V (460nm-500nm) trotz gleichbleibender Masse der Pollen-Wände stark an, wie aus der Absorptionsdifferenz deutlich wird (siehe Kap. 3.3.; Abb. 12). Diese Intensivierung der Absorption in den langwelligen Bereichen kann nicht auf den Einbau des Pyrrolidin-Restes und der damit verbundenen, molekular bedingten Absorption durch Chromophorenänderung zurückgeführt werden. Vielmehr ist anzunehmen, daß nicht nur die molekulare Struktur, sondern auch die räumliche Anordnung der Moleküle in der Pollenwand die Absorption beeinflussen.

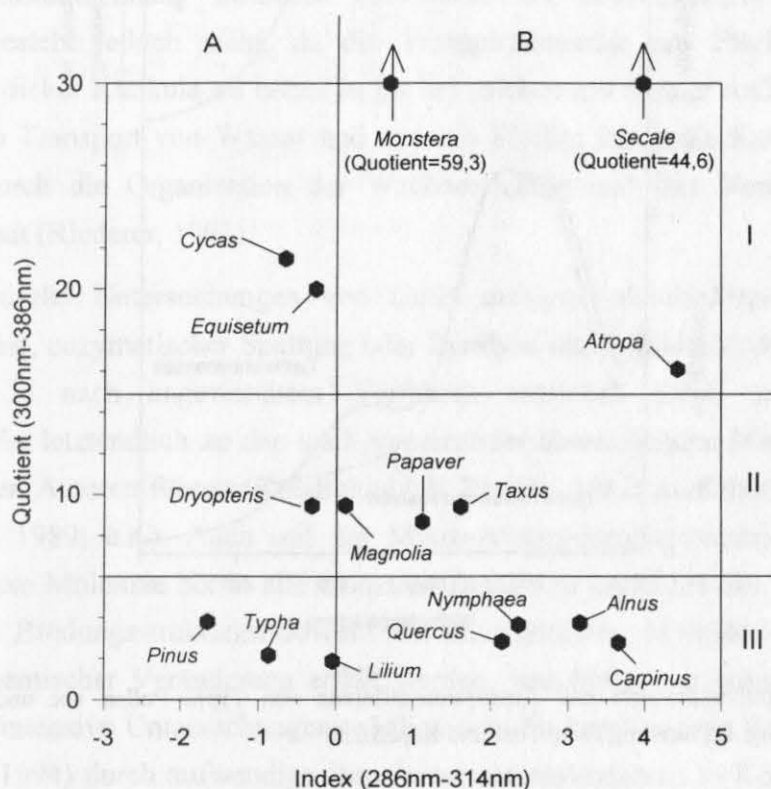


Abb. 35: Index-Quotienten-Diagramm für verschiedene Sporen und Pollen. Die Index- bzw. Quotienten-werte wurden aus den gemittelten Absorptionsspektren der verschiedenen Taxa berechnet.

Außer den identischen Veränderungen im Absorptionsspektrum von *Pinus*- und *Typha*-Pollen im langwelligeren Bereich durch die Pyrrolidinbehandlung ist im kurzwelligen Bereich (240nm-300nm) eine entgegengesetzte Absorptionsdifferenz zu verzeichnen (vergl. Abb. 21b und 36). Diese ist nur durch eine unterschiedliche Konstellation der Carboxyl-Gruppe innerhalb des konjugierten Systems der verschiedenen Sporopollenin-moleküle zu erklären. Folglich bestehen trotz der Ähnlichkeit der Absorptionsspektren von *Pinus*- und *Typha*-Pollen signifikante Unterschiede in der chemischen Struktur, die in der direkten Messung der Absorptionsspektren nicht nachweisbar sind, jedoch in Verbindung mit histochemischen Verfahren erfaßt werden können. Diese Kombination von Spektral-

photometrie und histochemischen Verfahren kann in der Zukunft einen wesentlichen Beitrag zur Strukturaufklärung des Sporopollenins liefern, der nicht nur biochemisch und phylogenetisch von besonderem Interesse ist, sondern auch wesentlich zum Verständnis der chemischen Vorgänge bei der Fossilisation der Sporen und Pollen beitragen kann.

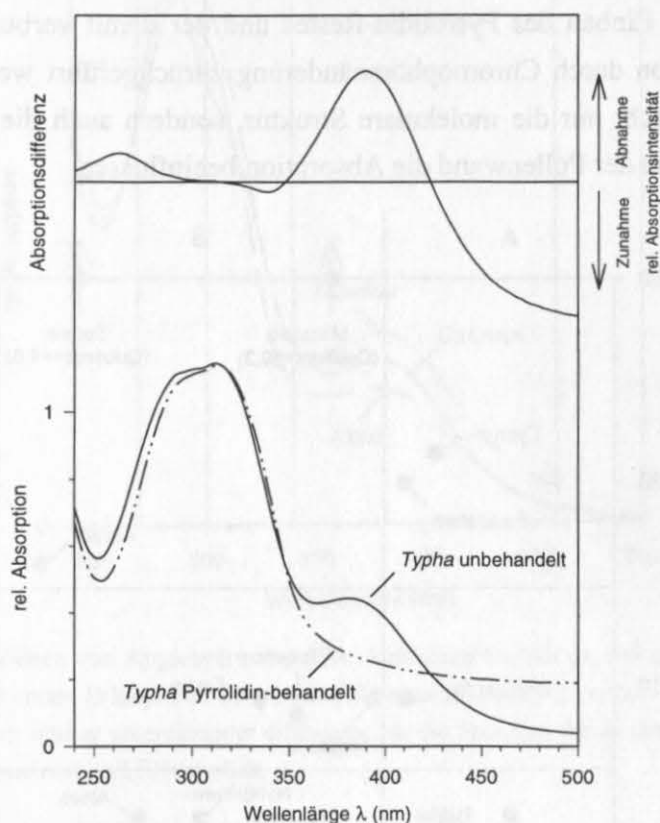


Abb. 36: Absorptionsspektrum und Absorptionsdifferenz von *Typha*-Pollen vor und nach Pyrrolidin-Behandlung. Erläuterung siehe Text und Kap. 5.2.5.

6.4.2. Kutikula

Die Kutikula ist eine extrazelluläre Membran, welche die Epidermis der Sproßpflanzen an Stielen, Blättern, Blüten und Fruchtteilen lückenlos⁴ überzieht. Sie fehlt jedoch bei den Wurzeln und bei vielen Wasserpflanzen. Bei den sekundär verdickten Sproßachsen der Holzgewächse wird die Kutikula durch das Korkgewebe (Periderm) ersetzt. Die primäre Funktion der Kutikula bzw. des Periderms ist der Schutz der oberirdischen Teile der Pflanze vor Wasserverlust. Ohne diese Barriere wäre die Transpiration von ungeschütztem pflanzlichem Gewebe so hoch, daß es innerhalb kurzer Zeit austrocknen und dadurch die Lebensfähigkeit verlieren würde. Weitere Funktionen sind der Schutz vor Auswaschung der lebenswichtigen Mineralstoffe bei Niederschlägen und gegen biogene Schädlinge

⁴ Nur in wenigen Ausnahmefällen fehlt eine kontinuierliche Kutikula wie z.B. bei den Lückeneperidermen der Blütenstände bei verschiedenen Aronstabgewächsen (Araceae).

(Bakterien, Pilze etc.). Der einzige direkte Kontakt zwischen dem pflanzlichen Gewebe und der Atmosphäre erfolgt durch die Spaltöffnungen, welche die Kutikula durchdringen und in der Regel durch spezielle Zellen mechanisch verschlossen werden können.

Die Kutikula zeigt einen komplexen, mehrschichtigen Aufbau und besteht überwiegend aus Cutin (siehe Kap. 4.1.2.) und Wachsen. Als weitere Komponenten sind auch Polysaccharide und ligninähnliche Polymere nachgewiesen (Hallam, 1982; Holloway, 1982a; b; Kögel-Knabner et al., 1994; u.a.). Die Dicke der Kutikularmembran variiert zwischen den verschiedenen Taxa und kann von wenigen Zehntel Mikrometer bis über 15 µm betragen. Ein direkter Zusammenhang zwischen der Dicke der Kutikularmembran und der Permeabilität besteht jedoch nicht, da die Transpirationsrate pro Flächeneinheit bei Gewächsen mit dicker Kutikula oft höher ist als bei solchen mit dünner Außenschicht. Die Barriere für den Transport von Wasser und anderen Stoffen durch die Kutikula wird im wesentlichen durch die Organisation der Wachsmoleküle und ihre Verteilung in der Membran geregelt (Riederer, 1991).

Bisherige chemische Untersuchungen von Cutin erfolgten durch Depolymerisierung mittels Verseifung, enzymatischer Spaltung oder Pyrolyse und anschließender Analyse der Spaltprodukte. Je nach angewandtem Verfahren entstehen dabei unterschiedliche Spaltprodukte, die letztendlich zu den stark voneinander abweichenden Molekülmodellen bei verschiedenen Autoren führen (Kolattukudy & Espelie, 1985; McKinney et al., 1996; Tegelaar et al., 1989; u.a.). Auch mit der Mikro-Absorptionsphotometrie ist es nicht möglich komplexe Moleküle bis in alle atomaren Details zu entschlüsseln. Dafür können die chemischen Bindungsstrukturen sowohl am unveränderten Molekül als auch nach kontrollierter chemischer Veränderung erfaßt werden, was bisher nur durch aufwendige, zeit- und kostenintensive Untersuchungen möglich war. So konnten zum Beispiel Kögel-Knabner et al. (1994) durch aufwendige Depolymerisationsverfahren in Kombination mit ^{13}C -NMR-Spektroskopie und Pyrolyse-Gaschromatographie an angereicherten Tannennadeln-Kutikulen (*Picea abies*) Lignin als Bestandteil des Cutins nachweisen. Dieser Nachweis ist mit der Mikro-Absorptionsphotometrie auch an Kutikulen-Bruchstücken von wenigen Mikrometer Durchmesser mit minimalem Präparationsaufwand möglich: Durch dreitägiges Behandeln von *Picea*-Kutikulen mit kaltem Aminoethanol (siehe auch Kap. 5.2.5.) werden die estergebundenen Monomere vom Cutinmolekül abgespalten und gleichzeitig mit den Wachsen aus der Kutikula entfernt. Die ursprüngliche morphologische Struktur der Kutikula bleibt bei diesem Verfahren erhalten (Abb. 37). Folglich ist auch der "eigentliche gerüstbildende Strukturteil" der Kutikula und letztendlich des Cutins nach der Entfernung der Wachse und Teildepolymerisierung des Cutins noch vorhanden.

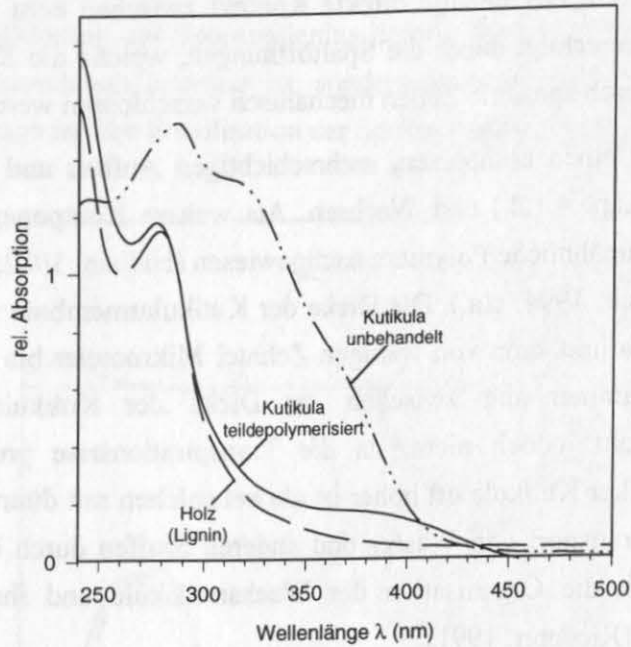


Abb. 37: Absorptionsspektrum einer rezenten *Picea*-Kutikula vor und nach der Teildepolymerisierung mit Aminoethanol und von Lignin aus dem Holz von *Picea*.

Der direkte absorptionsphotometrische Vergleich zwischen der teildepolymerisierten Kutikula und dem Holz bzw. dem Lignin von *Picea abies* zeigt, daß bei diesem Taxon die wesentlichen, strukturbildenden Bestandteile der Kutikula aus Lignin bestehen. Dies ist durch die praktisch identische Absorption von Lignin und dem "Cutin-Rest" im Bereich von 280nm bis 300nm nachweisbar (Abb. 37). Die zu Lignin relativ erhöhten Absorptionswerte des teildepolymerisierten Cutins in den Bereichen 240nm - 280nm und 300nm - 430nm weisen auf eine Vergrößerung der konjugierten Systeme im Lignin und damit auf einen komplexeren Aufbau des "Kutikula-Lignins" im Gegensatz zum "Holz-Lignin" hin. Besonders signifikant ist bei diesem Depolymerisationsversuch, daß die Absorptionsintensität im Wellenlängenbereich von 290nm bis 400nm stark erniedrigt wird. Dies kann durch eine einfache Abspaltung von ester gebundenen Monomeren nicht erklärt werden, da der Absorptionsbereich sowohl für die Esterbindung als auch für die einfachen Monomere unterhalb der Meßgrenze von 240nm liegt. Die bisher einzige Erklärung für dieses Phänomen ist, daß die einzelnen Monomere nicht durch einfache Esterbindung an ein "Zentralkomplex" gebunden sind, sondern daß sie komplexe zwei- oder dreidimensionale, vernetzte Strukturen mit komplexen konjugierten Systemen an den Vernetzungspunkten bilden. Diese Strukturen besitzen eine hohe taxonspezifische Varianz. Sie können mit der Mikro-Spektralphotometrie optimal erfaßt werden und für zukünftige Biodiversitätsstudien und phylogenetische Untersuchungen auf der Basis der Kutikularanalyse ein unverzichtbares Hilfsmittel sein (Abb. 38).

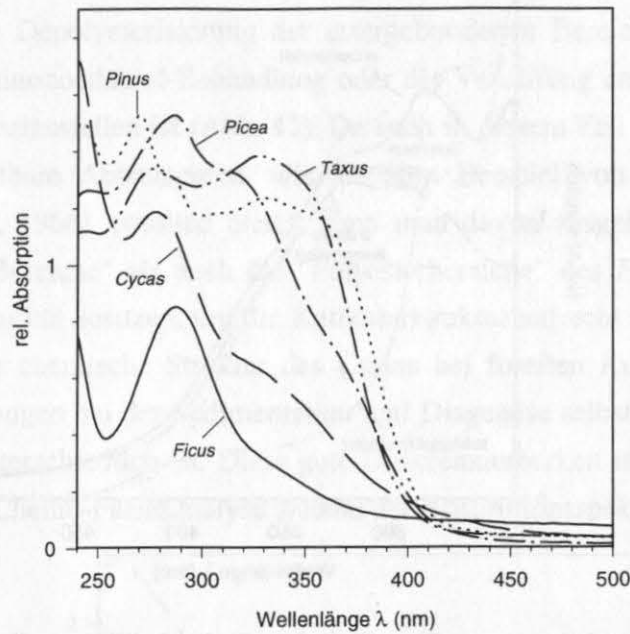


Abb. 38: Absorptionsspektren von Pflanzen-Kutikulen. Die Variationsbreite und der hohe Strukturierungsgrad der Spektren zeigen den komplexen Aufbau und die Variationsbreite der chemischen Struktur des Cutins bei den verschiedenen Pflanzengattungen.

Die chemischen Veränderungen der Kutikula während der Fossilisation oder des natürlichen Verrottungsprozesses sind ebenfalls mit der Mikro-Spektralphotometrie erfaßbar. Nach den bisherigen Initialuntersuchungen lassen sich hierbei zwei unterschiedliche chemisch-biologische, faziesabhängige Abbauprozesse unterscheiden, bei denen selektiv Bereiche des Cutinmoleküls verändert bzw. abgebaut werden. Unter sauerstoffreichen (aeroben) Bedingungen, wie sie zum Beispiel im Waldboden oder bei der Kompostierung bestehen, bleiben die Kutikulen in ihrer ursprünglichen Morphologie erhalten. Die Absorptionsintensität nimmt hierbei im Wellenlängenbereich von 240nm bis 330nm stark ab (Abb. 39). Diese Intensitätsabnahme durch die Kompostierung kann auf den Abbau des "Kutikulen-Lignins" zurückgeführt werden. Daß es sich hierbei tatsächlich überwiegend um abgebaute Ligninsubstanz handelt, läßt sich durch Addieren des durch Depolymerisation erhaltenen Absorptionsspektrums von "Kutikula-Lignin" (siehe Abb. 37) zum Absorptionsspektrum der kompostierten Kutikula zeigen. Es entsteht ein Summenspektrum das dem Absorptionsspektrum einer unbehandelten Kutikula weitgehend entspricht (Abb. 39). Eine Intensitätsabnahme unterhalb 300nm ist auch bei einem Teil der fossilen Kutikulen festzustellen, woraus geschlossen werden kann, daß auch diese Kutikulen zumindest primär unter aeroben Bedingungen abgelagert sind (Abb. 40). Dies zeigen vor allem die Kutikulen aus der Kieler Förde (Abb. 40b) und aus dem Kompostiersversuch (Abb. 40c), die sich praktisch nur in der Absorptionsintensität bei 325nm unterscheiden.

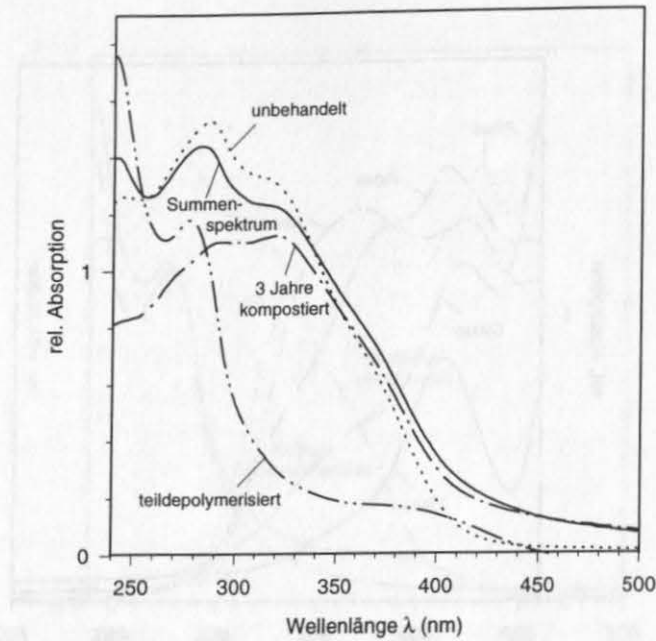


Abb. 39: Absorptionsspektrum von *Picea*-Kutikulen nach dreijähriger Kompostierung und nach Aminoethanol-Teilpolymerisierung (siehe auch Abb. 47). Die beiden Absorptionsspektren zeigen eine nahezu inverse Abnahme der Absorptionsintensität relativ zum Absorptionsspektrum unbehandelter *Picea*-Kutikulen. Durch Addieren von einem Drittel der Absorptionswerte der mit Amino-ethanol behandelten Kutikula zu den Absorptionswerten der kompostierten Kutikula entsteht ein "Summenspektrum", das dem Absorptionsspektrum unbehandelter Kutikulen im Bereich von 260nm bis 340nm annähernd entspricht.

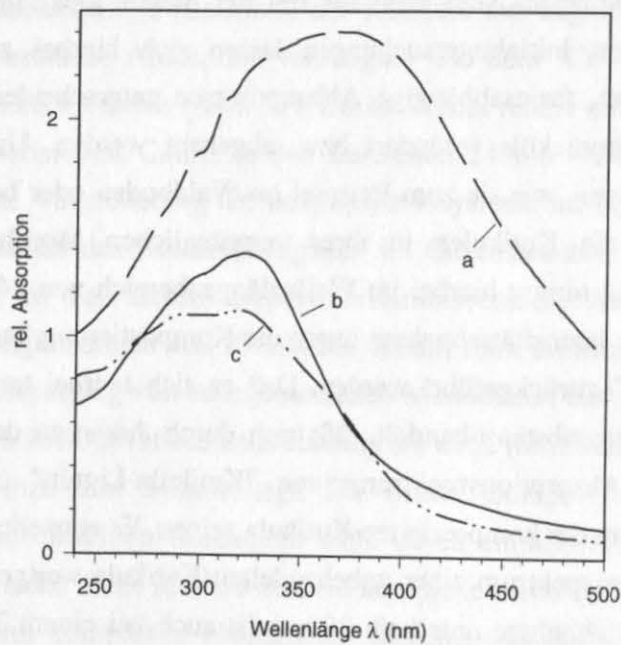


Abb. 40: Absorptionsspektren von Kutikulen mit reduzierter Absorptionsintensität unterhalb der Wellenlänge von 300nm. a) Kutikula aus Deltasedimenten der Obertrias (Nor) von NW-Australien (Probe ODP Site 760A-22X-3, 74-80 cm: Brenner, 1992); b) Kutikula aus der miozänen Braunkohle von Bitterfeld; c) Kutikula nach dreijähriger Kompostierung.

Ein praktisch inverser chemischer Abbau des Cutins erfolgt unter anoxischen Bedingungen, wobei eine Depolymerisierung der estergebundenen Bereiche des Cutins stattfindet, die einer Aminonoethanol-Behandlung oder der Verseifung entspricht und auch an fossilen Kutikulen festzustellen ist (Abb. 41). Da auch in diesem Fall die Morphologie der Kutikula ohne sichtbare Abbauspuren, wie sie zum Beispiel von Sporen und Pollen bekannt sind (Elsik, 1966), erhalten bleibt, kann man davon ausgehen, daß sowohl die "polyaromatischen Bereiche" als auch die "Polyesterbereiche" des *Picea*-Cutins für sich allein genügend Stabilität besitzen, um die Kutikularstruktur aufrecht zu erhalten. Dies bedeutet aber, daß die chemische Struktur des Cutins bei fossilen Kutikulen je nach den chemischen Bedingungen bei der Sedimentation und Diagenese selbst bei ein und demselben Taxon völlig unterschiedlich ist. Diese gute Differenzierbarkeit ist eine optimale Voraussetzung für eine Chemo-Faziesanalyse anhand der Absorptionsspektren von Kutikulen.

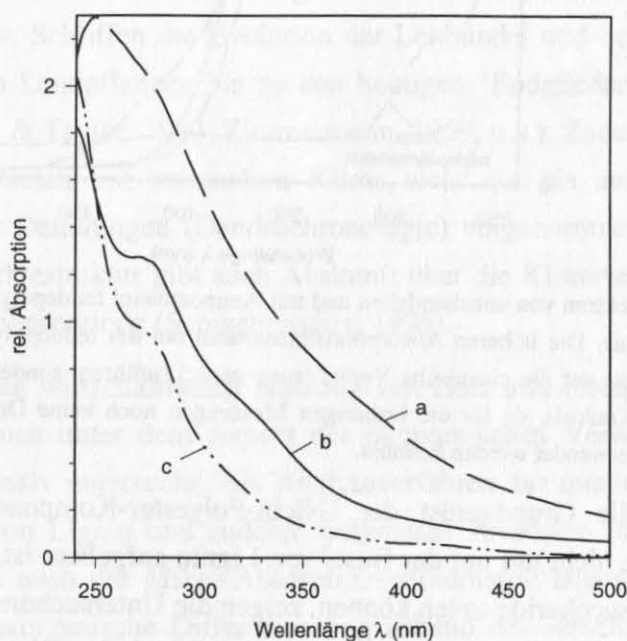


Abb. 41: Absorptionsspektren von Kutikulen mit reduzierter Absorptionsintensität oberhalb der Wellenlänge von 280nm. a) Kutikula aus Deltasedimenten der Obertrias (Nor) von NW-Australien (Probe ODP Site 760A-22X-3, 74-80 cm: Brenner, 1992); b) Kutikula aus einer Kalkmudde des Belauer Sees des mittleren Subboreals (Bohrung BLS Q300, 12,36m unter Sedimentoberfläche); c) Kutikula aus Schlicksediment der Kieler Bucht (Bohrung PO 220-48-3, 0,6m unter Sedimentoberfläche).

Die extreme Variationsbreite der Absorptionsspektren der Kutikulen verschiedener Taxa (siehe Abb. 38) ist nicht nur auf die unterschiedliche Struktur des "Polyesterbereichs" des Cutinmoleküls zurückzuführen, sondern auch auf den "polyaromatischen Bereich" bzw. die "Nicht-Polyester-Komponente". Nach der Teildepolymerisierung von *Pinus*-Kutikulen mit Aminoethanol weist das Absorptionsspektrum auf ein Ligninderivat hin, das sich durch seine Intensitätsdifferenz zwischen 260nm und 280nm klar von dem der *Picea*-Kutikulen unterscheidet (vergl. Abb. 42 und Abb. 39). Bei *Taxus*-Kutikulen ist nur eine geringe

Abnahme der Absorptionsintensität im Wellenlängenbereich von 300nm bis 380nm im Vergleich zu frischen Kutikulen festzustellen. Im *Taxus*-Cutin sind folglich nur wenige mit Aminoethanol abspaltbare Esterbrücken vorhanden, worin es sich eindeutig von *Pinus*- und *Picea*- Cutin unterscheidet.

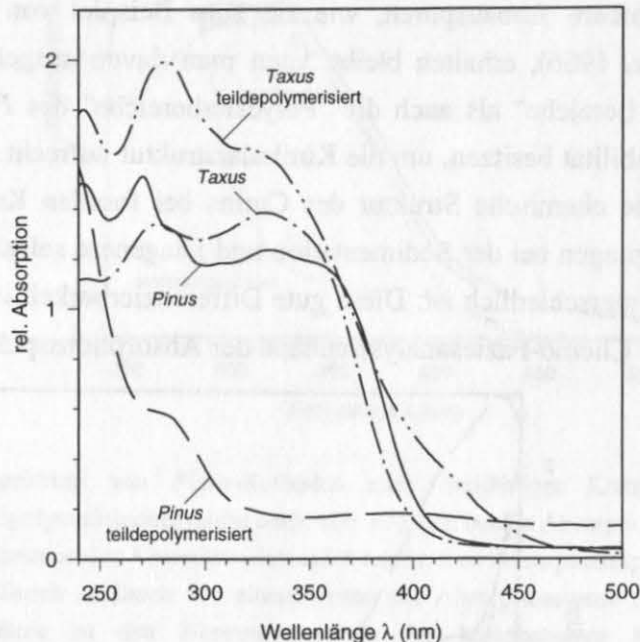


Abb. 42: Absorptionsspektren von unbehandelten und mit Aminoethanol teildepolymerisierten Kutikulen von *Taxus* und *Pinus*. Die höheren Absorptionsintensitäten bei der teildepolymerisierten Kutikula von *Taxus* sind nicht auf die chemische Veränderung zurückzuführen, sondern auf die primär größere Dicke dieser Kutikula, da für die bisherigen Messungen noch keine Dünnschnitte mit definierter Schnittbreite verwendet werden konnten.

Daß das strukturelle Grundgerüst der "Nicht-Polyester-Komponente" des Cutins bei verschiedenen Taxa nicht nur auf der Basis von Lignin aufgebaut ist, sondern an Stelle der Aromate auch Polysaccharide treten können, zeigen die Untersuchungen von Tegelaar et al. (1989) an den Kutikulen von *Agave americana*. Die hohe Diversität der chemischen Strukturen bei den Kutikula-Biopolymeren läßt auf einen hohen Differenzierungsgrad der Biosynthese des Cutins bei den verschiedenen Pflanzentaxa schließen. Dieser ermöglicht wiederum einen direkten Rückschluß auf die Evolution der Pflanzen, da die Biosynthese der genetischen Steuerung unterliegt. Letztendlich bedeutet das, daß die Diversität des Cutins der Pflanzenkutikula, vor allem bei gleichzeitiger Korrelation mit dem entsprechenden Sporopollenin, als Proxy für die genetischen Veränderungen der Pflanzen verwendet werden kann.

6.4.3. Holzreste

Als Holz bezeichnet man in der Pflanzenanatomie das vom Kambium der Samenpflanzen nach innen abgegliederte Dauergewebe, unabhängig vom Verholungsgrad bzw. dem

Anteil des inkrustierten Lignins. Es ist ein "mehrfunktionales" Gewebe, das sowohl der Festigung als auch der Speicherung und dem Stofftransport dient. Die Farbe des Holzes bei jungen Pflanzen und in den äußeren Bereichen älterer Bäume ist mehr oder weniger weißlich (Splintholz), das Innere des Stammes ist oft durch polymere aromatische Verbindungen dunkel gefärbt (Kernholz).

Lignin ist chemisch eine stabile Substanz, die nicht durch Bakterien abgebaut werden kann, da sie keine durch enzymatische Hydrolyse spaltbaren Bindungen enthält. In der Natur wird Holz praktisch nur von wenigen Pilzarten (z.B. Weiß- oder Braunfäulepilze) unter aeroben Bedingungen abgebaut (Chen & Chang, 1985; Kirk & Farrell, 1987; Odier & Rouau, 1985; u.a.). Die gute Erhaltungsfähigkeit der Gewebestrukturen von Holzstämmen bei Luftabschluß in organischer Substanz oder durch Mineralisierung (z.B. Petrified Forest; Arizona) hat sich für die Paläobotanik von größter Bedeutung erwiesen, da anhand von Holzquerschnitten bzw. Schliffen die Evolution der Leitbündel und deren Anordnung im Xylem von den ersten Landpflanzen bis zu den heutigen "Endgliedern" nachweisbar ist (Stewart, 1983; Taylor & Taylor, 1993; Zimmermann, 1959; u.a.). Zudem können am Holz von Bäumen aus Gebieten mit saisonalem Klima nicht nur bis auf das Jahr genaue chronostratigraphische Datierungen (Dendrochronologie) vorgenommen werden, sondern die jahrringinterne Dichtestruktur gibt auch Auskunft über die Klimaverhältnisse während der jeweiligen Vegetationsperiode (Schweingruber, 1996).

Aufgrund der intensiven wirtschaftlichen Nutzung von Holz und Holzprodukten wird die Chemie des Holzes auch unter dem Aspekt der ökonomischen Verwertbarkeit und zur Qualitätskontrolle intensiv untersucht. Als Analyseverfahren zur qualitativen und quantitativen Bestimmung von Lignin und anderen polymeren Aromaten im Holz wird außer chemischen Verfahren auch die Mikro-Absorptionsphotometrie angewendet. Sie ermöglicht nicht nur eine taxonomische Differenzierung anhand der verschiedenen polymeren Aromate in den Hoftüpfeln der Gymnospermen, sondern läßt auch einen direkten Nachweis von Veränderungen des Holzes durch Umwelteinflüsse zu (Bauch & Berndt, 1973; Bauch et al., 1974; Koch et al., 1996; u.a.).

Das Absorptionsspektrum des Lignins, das im Splintholz praktisch in reiner Form gemessen werden kann, zeichnet sich durch ein Absorptionsmaximum bei 278nm bis 280nm, ein Minimum bei 260nm und einen raschen Absorptionsintensitätsanstieg unterhalb 250nm aus (Abb. 43), worin es dem Absorptionsspektrum von Chitin-Eiweiß-Komplexen annähernd gleicht (siehe Kap. 6.6.3.). Die Gefahr einer Verwechslung dieser beiden Materialien kann bei der Mikro-Spektralphotometrie selbst bei dispersem, fossilem Material weitgehend ausgeschlossen werden, da die zu messenden Objekte im Regelfall dem jeweiligen Ausgangsorganismus zugeordnet werden können. Durch den zusätzlichen Einbau von weiteren polymeren Aromaten, der im allgemeinen mit einer dunklen

Verfärbung verbunden ist, wird die Absorptionsintensität in den langwelligeren Bereichen bzw. oberhalb von 280nm intensiviert und/oder durch weitere Absorptionsmaxima erweitert und gleichzeitig um den für Lignin spezifischen, steilen Intensitätsanstieg unterhalb 250nm verringert (Abb. 43).

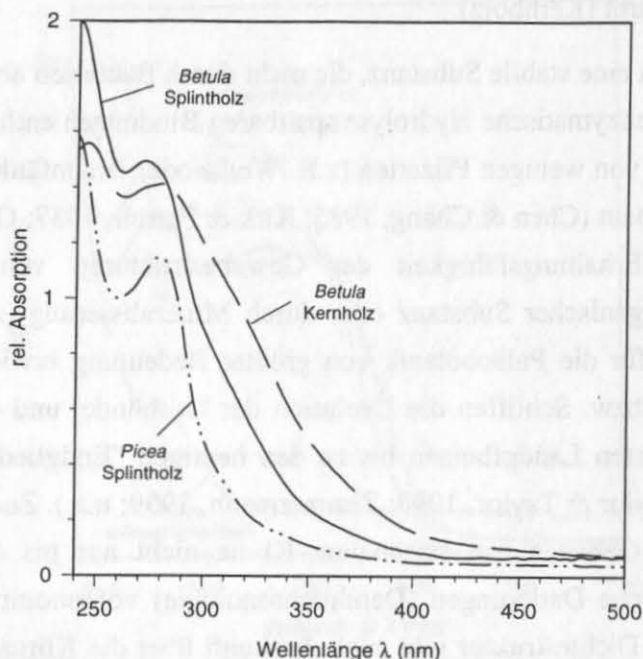


Abb. 43: Absorptionsspektrum des Lignins aus dem Splintholz von *Betula* und *Picea*. Die Variation in den Intensitätsverhältnissen bei diesen beiden Absorptionsspektren ist auf die unterschiedlichen Anteile von Coniferylalkohol und Sinapin-/Cumarylalkohol im Gymnospermen- und Angiospermenlignin zurückzuführen. Die Zunahme der Absorptionsintensität beim Absorptionsspektrum des *Betula*-Kernholzes ist auf den Einbau von polymeren Aromaten zurückzuführen.

Der Nachweis von Lignin und anderen polymeren Aromaten ist auch an fossilen Hölzern möglich, selbst wenn diese in verkieseltem Zustand vorliegen (Abb. 44a). Die Absorption der Holzsubstanz zeigt auch nach der Entmineralisierung mit Flußsäure keine wesentliche Veränderung, die auf die Präparation zurückgeführt werden könnte (Abb. 44b). Folglich kann die Analyse der chemischen Zusammensetzung der organischen Fraktion in fossilen Hölzern in situ an Gesteinsdünnschliffen ebenso durchgeführt werden wie an palynologischen Präparaten. Die Resultate der Absorptionsmessungen an fossilen und rezenten Hölzern sind direkt miteinander korrelierbar.

Da die Lignifizierung von fossilem Holz, dessen Veränderung und der Einbau weiterer polymerer Aromate auch noch in mesozoischen Hölzern und selbst in einzelnen dispersen Tracheiden nachweisbar ist (Abb. 45), eröffnen sich durch die Mikro-Spektralphotometrie völlig neue Wege für die Paläobotanik hinsichtlich der Evolution des Holzes der Samenpflanzen, dessen Diagenese und der saisonalen Paläo-Umwelteinflüsse.

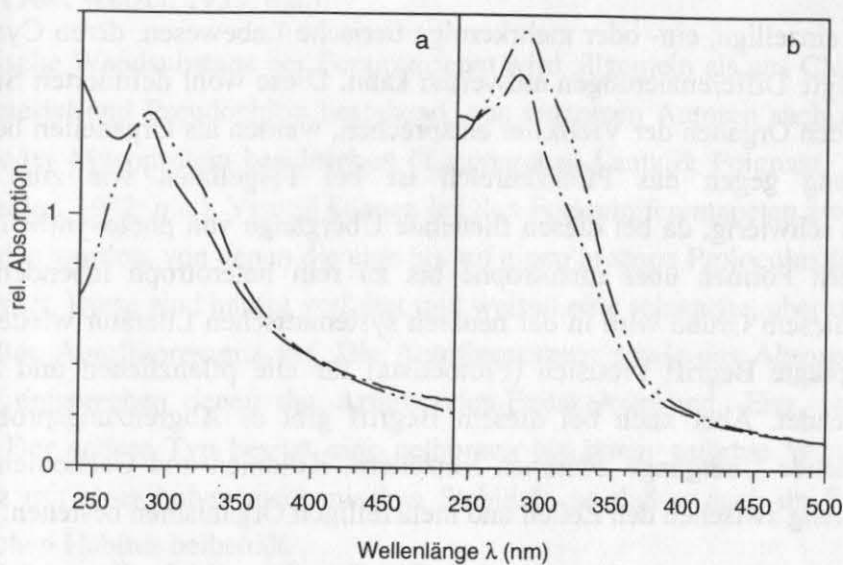


Abb. 44: Absorptionsspektren eines verkieselten Gymnospermen-Holzes aus der miozänen Braunkohle von Gaschwitz. Gemessen am a) chemisch unbehandelten, mineralisierten Dünnschliff, b) nach Entmineralisierung mit HF.

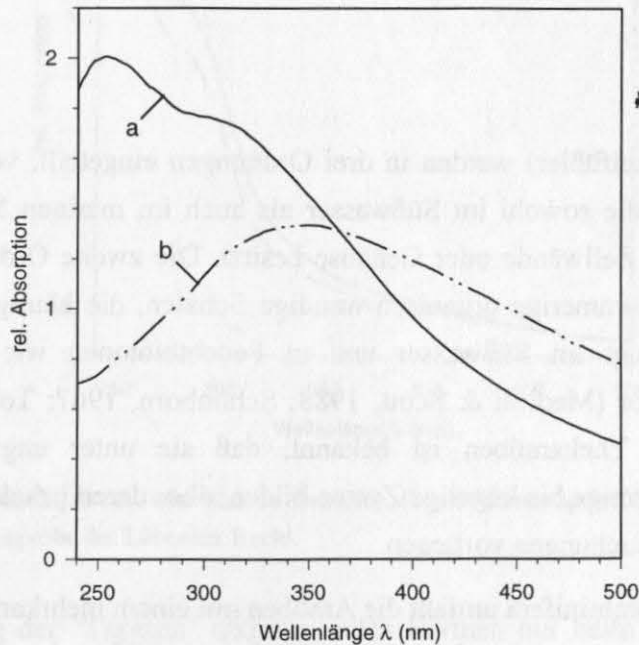


Abb. 45: Absorptionsspektren disperser Gymnospermen-Tracheiden aus dem Nor (Trias) von NW-Australien (Probe: ODP Leg 760A-22-3, 74-80 cm). a) Das Spektrum dieser Tracheide zeigt im Wellenlängenbereich unterhalb 350nm einen deutlichen Absorptionsintensitätsanstieg, der auf noch vorhandene Ligninreste schließen läßt, vergleichbar dem miozänen Holz aus Braunkohlen (siehe Abb. 44). b). Beim Spektrum dieser Tracheide ist eine Absorptionsintensitätsabnahme im Wellenlängenbereich unterhalb 350nm zu verzeichnen, der auf einen nahezu vollständigen Abbau des Lignins hinweist. Die hohe Absorptionsintensität zwischen 350nm und 400nm ist auf polymere Aromate zurückzuführen, die sowohl auf aromatischen Holzinhaltstoffen als auch auf kondensierten Huminstoffen beruhen können.

6.5. Protozoa

Protozoen sind einzellige, ein- oder mehrkernige tierische Lebewesen, deren Cytoplasma-körper ausgeprägte Differenzierungen aufweisen kann. Diese wohl definierten Strukturen, die funktionell den Organen der Vielzeller entsprechen, werden als Organellen bezeichnet. Eine Abgrenzung gegen das Pflanzenreich ist bei Flagellaten wie zum Beispiel Dinoflagellaten schwierig, da bei diesen fließende Übergänge von photosynthetisierenden bzw. autotrophen Formen über mixotrophe bis zu rein heterotroph lebenden Formen bestehen. Aus diesem Grund wird in der neueren systematischen Literatur wieder der von E. Haeckel geprägte Begriff Protisten (Protoctista) für alle pflanzlichen und tierischen Einzeller verwendet. Aber auch bei diesem Begriff gibt es Abgrenzungsprobleme, da praktisch fließende Übergänge zwischen Einzellern, Kolonien und Coenobien mit und ohne Arbeitsteilung zwischen den Zellen und mehrzelligen Organismen bestehen.

Abgesehen von den Zysten der heterotrophen Dinoflagellaten (siehe Kap. 6.3.1) werden von weiteren Protozoen fossil erhaltbare organische Wände und Zysten gebildet, die aber, abgesehen von den Tintinniden-Loricae, auch bei rezenten Formen nur in Ansätzen bearbeitet sind.

6.5.1. Rhizopoda

Die Rhizopoda (Wurzelfüßler) werden in drei Ordnungen eingeteilt, von denen die erste Ordnung Amoebina, die sowohl im Süßwasser als auch im marinen Milieu vorkommt, keine fossilisierbaren Zellwände oder Gehäuse besitzt. Die zweite Ordnung Thekamoebe (Testacea) bildet einkammerige organisch-wandige Schalen, die häufig agglutiniert sind. Sie kommen bevorzugt im Süßwasser und in Feuchtbiotopen wie zum Beispiel in *Sphagnum*-Polstern vor (Medioli & Scott, 1988; Schönborn, 1967; Tolonen, 1986; u.a.). Von Amöben und Thekamöben ist bekannt, daß sie unter ungünstigen Umweltbedingungen linsenförmige bis kugelige Zysten bilden, über deren Erhaltungspotential aber bis heute keine Untersuchungen vorliegen.

Die dritte Ordnung Foraminifera umfaßt die Amöben mit einem mehrkammerigen Gehäuse, das auf einer inneren organischen Membran aufgebaut ist. Diese innere Membran (inner organic layer -IOL-, foram-lining, microforaminifera, Foraminiferentapete oder Scytinascien sensu Deak, 1964) aus fossil erhaltbarem organischen Material wird zwar seit ihrer Entdeckung durch Ehrenberg (1838) in vielen Publikationen erwähnt, eine systematische Zuordnung zu den Karbonatgehäusen der Foraminiferen und deren ökologischen Präferenzen erfolgte aber bis heute nur in Ansätzen. Eine Differenzierung wurde nur in wenigen Arbeiten aufgrund morphologischer Variationen (z.B. einzeilig, mehrzeilig,

planspiral, trochospiral) vorgenommen (Stancliffe, 1989; 1996; Taugourdeau-Lantz & Poignant, 1964; Wetzel, 1933; u.a.).

Die organische Wandsubstanz der Foraminiferen wird allgemein als aus Chitin, chitinähnlichem Material und Pseudochitin bestehend, von einzelnen Autoren auch als Mucopolysaccharid oder Mucoprotein beschrieben (Taugourdeau-Lantz & Poignant, 1964; Wetzel, 1957; Wheeler, 1982; u.a.). Visuell können bei den Foraminiferentapeten zwei Grundtypen unterschieden werden, von denen die eine bis auf einen braunen Proloculus farblose, dünne Wände besitzt. Diese sind häufig verfaltet und weisen eine schwache, aber deutliche gelbe bis gelbgrüne Autofluoreszenz auf. Die Autofluoreszenz sowie das Absorptionsspektrum (Abb. 46) entsprechen denen der Arthropoden-Exoskelette und -Eier, was auf Chitin hindeutet. Der andere Typ besitzt eine gelbbraun bis braun gefärbte Wand ohne Autofluoreszenz mit einer hohen mechanischen Stabilität, so daß er auch im Fossilen seinen ursprünglichen Habitus beibehält.

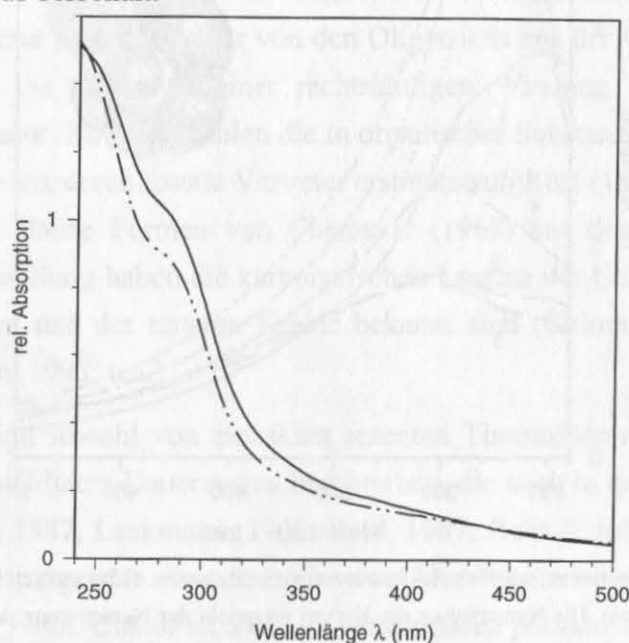


Abb. 46: Zwei Absorptionsspektren von dünnen farblosen Foraminiferentapeten mit Autofluoreszenz aus einer Oberflächenprobe der Lübecker Bucht.

Die dunkle Färbung der "Tapeten" tritt bei vielen Formen nur beim Proloculus und den ersten Kammern auf. Die nachfolgenden Kammerauskleidungen, die meist nur bei rezenten oder gut erhaltenen Exemplaren vorhanden sind, sind dünn, farblos und entsprechen dem ersten Typ. Dies läßt vermuten, daß die dunklen und mechanisch/chemisch sehr stabilen organischen Kammerauskleidungen vorwiegend im Juvenilstadium erzeugt werden und eventuell eine zusätzliche Schutzfunktion des Protoplasten darstellen. Aufgrund der fehlenden Autofluoreszenz dieser dunklen Wandkomponente sind Lipide und Polysaccharide als dominante Wandsubstanz weitestgehend auszuschließen. Die einzigen bisher bekannten Verbindungen, die sowohl die entsprechenden Fluoreszenzeigenschaften und

Absorptionsspektren besitzen und auch in fossilem organischen Material vorkommen, sind komplexe oder polymere Aromate ähnlich den Huminstoffen oder den Melaninen, deren Vorhandensein in "Foraminiferentapeten" aber noch durch chemische Analysen bestätigt werden muß. Da diese Stoffe auch fungizide und bakteriozide Eigenschaften besitzen, ist es denkbar, daß diese Wandkomponenten nicht nur gehäusestabilisierende Funktion haben, sondern auch eine Schutzfunktion gegen Bakterien und Pilze besitzen. Ob diese Stoffe als homogene Substanz die einzelnen Kammerwände aufbauen oder ob eine Kombination mit Chitin-Membranen ähnlich der Chitin-Peptid-Wechselagerung bei Insektenexoskeletten vorliegt, muß noch durch transmissions-elektronenmikroskopische Untersuchungen an Ultradünnschnitten geklärt werden.

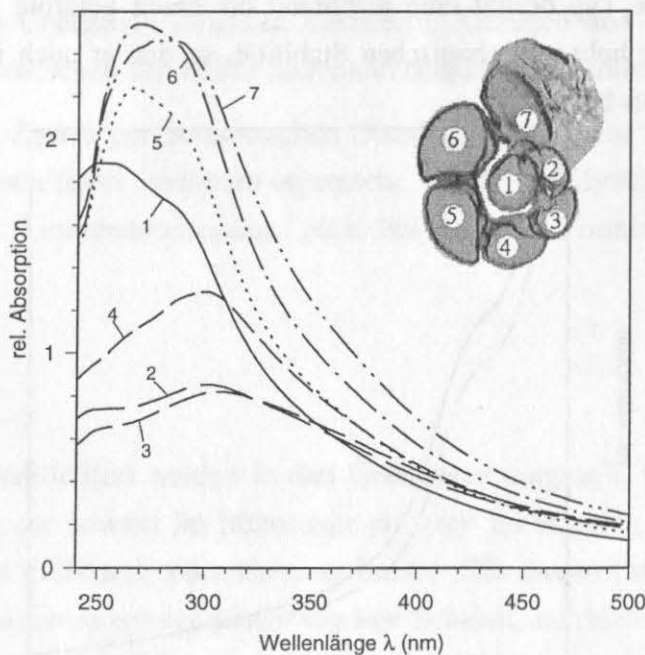


Abb 47: Absorptionsspektren der verschiedenen Kammern einer hellbraunen, dickwandigen Foraminiferentapete (Probe: PO 220-48-3, 60 cm). Die Numerierung der Kurven entspricht der Numerierung der Kammern. Auffallend ist die Differenzierung des Absorptionsspektrums zwischen den Ontogenesestadien 2 bis 4 mit einem Absorptionsmaximum zwischen 300nm bis 310nm und den Ontogenesestadien 5 bis 6 mit einem Absorptionsmaximum zwischen 265nm bis 280nm.

Die Absorptionsspektren der einzelnen Kammern bei den gefärbten "Tapeten" zeigen eine große Variabilität sowohl hinsichtlich des Absorptionsmaximums als auch der Strukturierung (Abb. 47). Auffallend ist bei diesen Spektren, daß die ersten drei Kammern ein ähnliches Absorptionsspektrum besitzen, mit Absorptionsmaxima zwischen 300nm und 310nm. Bei den nächsten drei Kammern schwanken die Absorptionsmaxima zwischen 265nm und 280nm, was auf eine unterschiedliche chemische Komposition des Wandmaterials hindeutet. Ob die chemischen Variationen des Wandmaterials ontogenetische oder umweltbedingte Ursachen (Salinität, Temperatur, Nahrungsveränderung, etc.) haben, konnte an den bisher untersuchten Exemplaren noch nicht geklärt werden. Für zukünftige

Untersuchungen wird die Ursache der chemischen Veränderung in den Foraminiferen-tapeten von besonderem Interesse sein, denn die eventuelle Möglichkeit, an fossilem Material kurzfristige Umweltveränderungen nachweisen zu können, würde neue Analysemöglichkeiten in der Paläo-Ökosystemforschung und in der Klimaforschung erschließen.

6.5.2. Ciliata

Ciliaten (Wimpertierchen) sind hinsichtlich ihres Körperbaus die am höchsten differenzierten Protozoen. Auf der Außenseite befinden sich zahlreiche fadenförmige Anhänge, die Cilien oder Wimpern, die zur Fortbewegung und Nahrungsaufnahme dienen. Die systematische Klassifizierung der Ciliaten, deren hierarchische Gliederung bei den verschiedenen Autoren variiert, erfolgt vorwiegend nach der Anordnung und Organisation der Cilien. Fossile Reste sind bisher nur von den Oligotricha aus der Ordnung Spirotricha (Formen, bei denen die Cilien in einer rechtsläufigen Windung zum Cytostom hin angeordnet sind) bekannt. Zu ihnen zählen die in organischer Substanz erhaltenen Gehäuse (Loricae) der Tintinniden, deren fossile Vertreter erstmals von Rüst (1885) aus Koprolithen des Juras und deren älteste Formen von Chennaux (1968) aus dem Silur beschrieben wurden. Eine Sonderstellung haben die karbonatischen Loricae der Calpionelliden, die nur aus dem obersten Jura und der unteren Kreide bekannt sind (Colom, 1948; Loeblich & Tappan, 1968; Tappan, 1993; u.a.).

Außer den Loricae sind sowohl von einzelnen rezenten Tintinniden als auch von "unbeschalten" oligotrichen Ciliaten Dauerzysten beschrieben, die auch in quartären Sedimenten vorkommen (Hensen, 1887; Laakmann, 1908; Reid, 1987; Reid & John, 1978; u.a.). Eine systematische Bearbeitung oder Zuordnung sowohl der fossilen als auch der rezenten Zysten erfolgte bisher nicht. Unklar ist auch, ob verschiedene paläozoische Acritarchen wie zum Beispiel Formen der Gattungen *Aremoricarium* oder *Pirea*, die morphologisch den rezenten Ciliaten-Zysten ähnlich sind, auf oligotriche Ciliaten zurückzuführen sind. Reid & John (1981) diskutierten auch die Möglichkeit der Zuordnung der Chitinozoen zu den Tintinniden.

Die Wandsubstanz der Loricae wird allgemein als Chitin-ähnlich oder als Pseudochitin beschrieben, diese Zuordnungen sind aber bisher durch keine chemischen Untersuchungen belegt (Tappan, 1993). Das Absorptionsspektrum der Loricae-Matrix der agglutinierenden Tintinnide *Tintinnopsis* ist nahezu identisch mit dem Absorptionsspektrum des Carapax von *Bosmina* (Cladocera), was vermuten läßt, daß zumindest bei *Tintinnopsis* Chitin in die Loricae eingebaut wird (Abb. 48). Ob dies bei allen Gattungen/Arten der Ordnung Spirotricha der Fall ist und ob auch bei den Zysten Chitin eingebaut wird, ist noch durch zukünftige Untersuchungen zu klären.

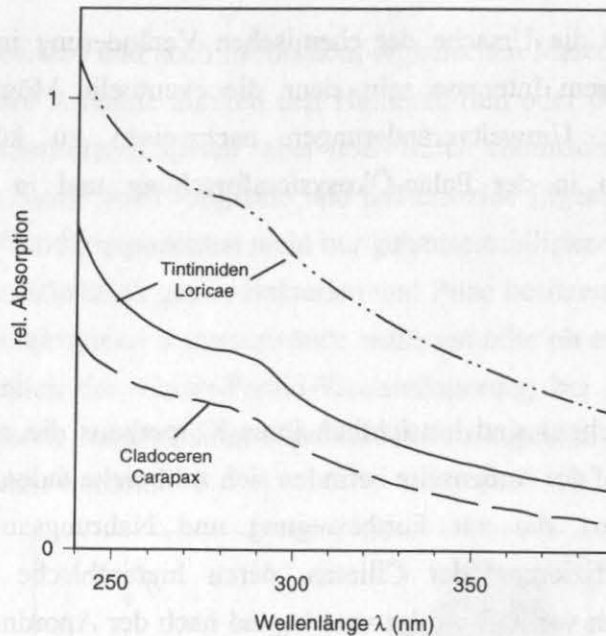


Abb.48: Vergleich der Absorptionsspektren der Matrix der agglutinierenden Tintinnide *Tintinnopsis* mit dem Absorptionsspektrum von Chitin eines Cladoceren-Carapax (*Bosmina*). Die nahezu identischen Absorptionsspektren lassen vermuten, daß die Loricæ-Matrix aus Chitin besteht oder dieses zumindest die Hauptkomponente bildet.

6.6. Metazoa/Zoomorphe

Im Gegensatz zu den Pflanzen, bei denen die gerüstbildenden Substanzen von Polysacchariden in Kombination mit Lipiden und polymeren Aromaten dominiert werden, bestehen die Gerüstsubstanzen der Metazoen aus Proteinen wie zum Beispiel Kollagen (Bindegewebe), das bei Wirbeltieren bis zu 30% des Gesamtproteins stellt, und Keratin (Haare, Horn, Federn, etc.). Zur Stabilisierung größerer Strukturen werden bei den Metazoen in der Regel Karbonate und in geringerem Umfang auch Phosphate in Form von Schalen, Knochen oder Zähnen eingebaut. Bei verschiedenen Invertebraten besteht die Gerüstsubstanz aus Chitin, meist in Kombination mit Protein oder Karbonat wie zum Beispiel bei den Arthropoden, Mollusken oder Insekten.

Proteine sind aufgrund ihrer geringen chemischen Stabilität im allgemeinen in ihrem ursprünglichen komplexen Verband nicht fossilisierbar. Selbst unter günstigsten Erhaltungsbedingungen sind nur Bruchstücke des Proteinpolymers oder nur noch die einzelnen Aminosäuren als Chemofossilien im Sediment nachweisbar. Chitin dagegen ist fossil erhaltungsfähig, wird aber durch die häufig angewandte Aufbereitungsverfahren wie Acetolyse oder Salpetersäureoxidation zerstört, weshalb der größte Teil der Metazoenfossilien in organisch-wandiger Erhaltung in palynologischen Untersuchungen unterrepräsentiert ist. In der Natur tritt Chitin mit Ausnahme der Fortsätze von Diatomeen praktisch nicht in reiner Form auf, sondern ist je nach funktioneller Anpassung mit Proteinen,

polymeren Aromaten oder mineralischen Substanzen zu einem "Verbundwerkstoff" kombiniert, was die fossile Erhaltungsfähigkeit erheblich beeinflusst. Vergleichbar ist das Chitin der Invertebraten mit der Cellulose der Pflanzen. Die Cellulose bildet in den Pflanzen ein Grundgerüst, das durch die Kombination mit Lignin (Holz), Kutin (Kutikula) oder Suberin (Rinde) neue chemische und physikalische Eigenschaften erhält. Entsprechend sind auch die Modifikationen bei der Chitin-Protein-Kombination, da zum Beispiel ein Insektenflügel anderen chemisch-physikalischen Einflüssen ausgesetzt ist als der Carapax eines Wasserflohs.

Die in organischer Substanz erhaltenen Fossilien der Invertebraten können unabhängig von der zoologischen Systematik nach ihrer Funktion in drei Gruppen eingeteilt werden:

- In Eier und Dauerstadien, die sowohl als Stadium im Lebenszyklus der jeweiligen Tiere auftreten aber auch umweltinduzierte Stressbildungen sein können,
- in Greif- und Kauwerkzeuge, die zusammenfassend als Scolecodonten bezeichnet werden, und
- in Exo- und Endoskelette, zu denen nicht nur die "Panzer" der Insekten und Arthropoden gerechnet werden können, sondern auch weitere Bildungen wie das Periostracum bei Mollusken oder die Wohnröhren der Pterobranchia.

6.6.1. Eier und Dauerstadien

Die Eier der Invertebraten bestehen häufig nur aus Gallerte oder dünnen Membranen und sind im Regelfall fossil nicht erhaltbar. Vereinzelt bilden unter bestimmten Lebensumständen sogenannte Dauereier, die speziell für eine längere Überlebensdauer auch unter extremen bzw. für die jeweilige Art lebensfeindlichen Bedingungen produziert werden. Diese Eier sind mit einer besonders stabilen Eihülle umgeben, die auch fossil überliefert werden kann.

Dauerstadien von Invertebraten sind bereit seit dem ausgehenden 19. Jahrhundert beschrieben. Bei vielen vor allem marinen Formen ist die systematische Zuordnung bis heute nicht bekannt, oder beruht auf morphologisch gestützten Vermutungen (z.B. Hensen, 1887; Lohmann, 1904). Eine nur auf der Morphologie beruhende Zuordnung ist aber problematisch, wie McMinn et al. (1992) an dem als rezente Dinoflagellaten-Zyste beschriebenen Copepoden-Ei *Cobricosphaeridium* nachweisen konnten, da von einer ganzen Reihe unterschiedlicher Organismen morphologisch ähnliche fossilisierbare Reste bekannt sind (z.B. Algenzysten, Pilzsporen, inaperturate Pollen, Zysten von Protozoen, etc.). Die Zugehörigkeit der meisten fossilen, aber auch in rezenten Sedimenten vorkommenden Dauerstadien der verschiedenen Invertebraten ist bis heute unbekannt. Eine

biologisch abgesicherte Zuordnung der Dauerstadien kann bisher nur für die folgenden Gruppen gegeben werden:

Turbellaria

Die Turbellarien (Strudelwürmer) gehören zum Stamm der Plathelminthes (Plattwürmer) und sind überwiegend Meeresbewohner des Litoralbereichs und des Schelfes. Verschiedene Arten kommen auch im Süßwasser oder in feuchten Landbiotopen vor. Die Tiere können sich durch Teilung ungeschlechtlich vermehren oder erzeugen zwei unterschiedliche Eitypen. Bei noch nicht geschlechtsreifen Tieren können sich zahlreiche Subitaneier mit dünner Schale bilden, für die man Selbstbefruchtung annimmt. Nach der Geschlechtsreife und nach der Begattung werden hartschalige Dauereier gebildet, die erst nach dem bald eintretenden Tod des Muttertieres frei werden und längere Trocken- und Frostperioden überdauern können.

Fossilisierbare Dauereier, die von verschiedenen Autoren auch als Coccons bezeichnet werden, sind bisher nur von den Ordnungen Seriata (Unterordnung Tricladida) und Neorhabdocoela aus limnischen Sedimenten und Torfen nachgewiesen (Frey, 1964; Gripp & Beyle, 1937; Wesenberg-Lund, 1896; u.a.). Aus marinen Sedimenten sind Turbellarien-Eier bisher in offener Nomenklatur (z.B. Forma B in Wrenn & Kokinos, 1986) oder, aufgrund ihrer habituellen Ähnlichkeit mit Tintinnen-Loricae, als Tintinnomorphe (Matthiessen, 1991; Van Waveren, 1993) beschrieben.

Gastrotricha

Die Gastrotricha (Bauchhärlinge, Flaschentierchen) werden zu dem Stamm der Nemathelminthes (Aschelminthes, Schlauchwürmer) gezählt. Sie sind zumeist benthisch lebende, marine oder limnische Wassertiere, die sowohl Subitan- als auch Dauereier ausbilden können. Fossile Dauereier werden bisher nur von wenigen Autoren unter Vorbehalt zu den Gastrotricha gestellt, eine systematische Untersuchung liegt bis heute noch nicht vor (Deevey, 1942; Gams, 1927; Knülle, 1957; u.a.).

Rotatoria

Die Rotatoria (Rädertiere) sind kleine im Wasser oder in Feuchtbiotopen teils frei lebende, teils festsitzende Nemathelminthes. Sie erzeugen ebenso wie die Gastrotricha Dauereier, die in wenigen Arbeiten sowohl aus limnischen (Lundqvist, 1936; Müller, 1970; Nipkow, 1920), als auch aus marinen Sedimenten (Snell et al., 1983; Marcus, 1990) beschrieben wurden. Die biologische Zuordnung verschiedener Rotatorien-Dauereier ist durch die Inkubationsexperimente von Nipkow (1961) belegt.

Tardigrada

Die Tardigrada (Bärtierchen) sind sehr kleine ($<1,2$ mm), wasserbewohnende Articulata, die aufgrund ihrer physiologischen Besonderheiten als eigener Stamm zählen. Sie besiedeln praktisch alle Lebensräume der Erde von der Tiefsee bis zum Hochgebirge, wo sie noch in Höhen über 6000 m zu finden sind, und kommen in allen Klimabereichen von den Tropen bis zur Arktis/Antarktis vor. Streßversuche zeigen, daß die Widerstandsfähigkeit der Tardigrada bei weitem alle Temperatur- und Feuchtigkeitsschwankungen, die gegenwärtig im irdischen Klima auftreten, übertrifft (Moritz, 1993). Die Eiablage erfolgt bei den verschiedenen Arten auf zwei unterschiedliche Weisen: Entweder es werden glatte Eier zum Schutz in die abgestreifte Kutikula der Mutter abgelegt, wo sie bis zum Schlüpfen verbleiben, oder es werden dickwandige Eier, die mit Stacheln oder starken Kutikularfeldern versehen sind, ins freie Wasser abgegeben. Letztere sind auch fossil in Süßwassersedimenten nachgewiesen (Brehm et al., 1948; Hesmer, 1929; Knülle, 1957).

Crustacea

Die meisten Crustacea betreiben Brutpflege, indem sie die Eier bis zum Schlüpfen am Körper tragen. Neben diesen bei der geschlechtlichen Fortpflanzung erzeugten Subitaneiern können zum Beispiel Anostraca, Cladocera und Copepoda doppelwandige, scabrate und ornamentierte Dauereier hervorbringen, die im Gegensatz zu den Subitaneiern einzeln im freien Wasser abgelegt werden. Entsprechend der Belastungsintensität und Dauer unterscheidet sich die "Funktionschemie" der Eihülle und infolge dessen auch die fossile Erhaltungsfähigkeit. Eier von Brutpflege betreibenden Arten, die im Extremfall in einem Brutraum innerhalb des Carapax geschützt sind (z.B. Cladocera, Ostracoda), bedürfen keiner chemisch stabilen Eihülle und sind daher fossil nicht erhaltungsfähig. Bei frei im Wasser abgelegten Eiern ist die Entwicklungszeit der Larven von entscheidender Bedeutung für die chemische Resistenz und somit auch für das Fossilisationspotential der Eihülle. Subitaneier, deren Entwicklung im Regelfall nur wenige Tage bis Wochen benötigt, sind daher nicht oder nur unter besonders günstigen Erhaltungsbedingungen fossilisierbar. Dauereier dagegen zeichnen sich durch ihre widerstandsfähige Eihülle aus, die eine mehrjährige Entwicklungspause der Eier ermöglicht. So können zum Beispiel Ostracoden-Dauereier noch nach einer Ruhepause von 30 Jahren wieder zur Entwicklung gebracht werden (Gruner, 1993).

Der Grund für die Erzeugung von Dauereiern kann entweder eine genetisch kontrollierte Diapause oder aber eine Verschlechterung der biotischen Bedingungen sein. Diese Überlebensstrategie wird von vielen Süßwasserarten zur Überwindung ungünstiger klimatischer und ökologischer Lebensbedingungen angewandt, was auch das Fehlen der entsprechenden Arten inklusive ihrer Larvenstadien im Plankton zu bestimmten Jahreszeiten erklärt. Auslösende Faktoren für die Bildung von Dauerstadien können zum

Beispiel sinkende Temperaturen und/oder abnehmende Lichtmenge (Kurztag im Herbst) sowie abnehmendes Nahrungsangebot sein (Gruner, 1993).

Die taxonomische Zuordnung der Dauereier bei lebenden Crustaceen ist bisher nur für wenige Arten durch Inkubationsexperimente nachgewiesen (Kasahara et al., 1974; Lindley, 1986; Lohmann, 1904; Marcus, 1990; Onbé, 1985; u.a.). Der überwiegende Teil der Dauereier wird daher nur nach morphologischen Kriterien zugeordnet (Biebow, 1996; Van Waveren, 1992; 1994).

Bryozoa

Die Bryozoa (Moostiere) sind Tentakulaten deren Einzeltiere einen stark vereinfachten Bau haben (Fehlen der Blutgefäße und Nephridien) durch Koloniebildung jedoch eine hohe Komplikation erreichen. Die Kolonien können einfache Krusten bilden, aber auch komplizierte strauchförmige Wuchsformen zeigen. Der größte Teil der Bryozoen sind Meeresbewohner und nur wenige Arten sind auch in das Süßwasser vorgedrungen. Die Vermehrung erfolgt über Eier, die aber fossil nicht erhaltbar sind, weil Bryozoen Brutpflege betreiben und aus diesem Grund keine stabilisierende Substanzen in der Eihülle notwendig sind.

Verschiedene Süßwasserbryozoen (Phylactolaemata) überwinden ungünstige Lebensbedingungen wie den Winter oder Austrocknung des Gewässers durch Dauerknospen, den sogenannten Statoblasten. Diese entstehen aus dotterhaltigen Meso- und eingewanderten Ectodermzellen, die von fossilisierbaren Kapsel umgeben werden.

Absorptionsspektren der Ei- und Dauerstadienhüllen

Die bisher mikro-spektralphotometrisch untersuchten Eier und Dauerstadien, die eindeutig dem Zooplankton zugeordnet werden können, besitzen ein in seinem allgemeinen Verlauf dem Chitin ähnliches Absorptionsspektrum mit einem Absorptionsmaximum bei 280nm und einer starken Intensitätszunahme unterhalb 260nm (Abb. 49). Das Absorptionsminimum bei 260nm ist nur schwach ausgeprägt was darauf hinweist, daß außer Chitin-Protein noch weitere bisher nicht zuordenbare Substanzen eingebaut werden. Dies kann auch aufgrund der Eigenfarbe angenommen werden, die von farblos-durchsichtig bis gelb-durchscheinend variiert. Man kann daher davon ausgehen, daß das Grundgerüst des jeweiligen Biopolymers aus Chitin aufgebaut ist. Zwischen den einzelnen Spektren können jedoch bei der Ausprägung des Maximums und der Absorptionsverhältnisse zwischen den verschiedenen Wellenlängen Variationen festgestellt werden, die auf eine unterschiedliche chemische Gesamtstruktur des jeweiligen Biopolymers schließen läßt. Inwieweit diese Variationen artspezifisch sind oder durch Umwelteinflüsse hervorgerufen werden, kann nur durch weitere mikro-absorptionsphotometrische Untersuchungen und chemische Analysen geklärt werden.

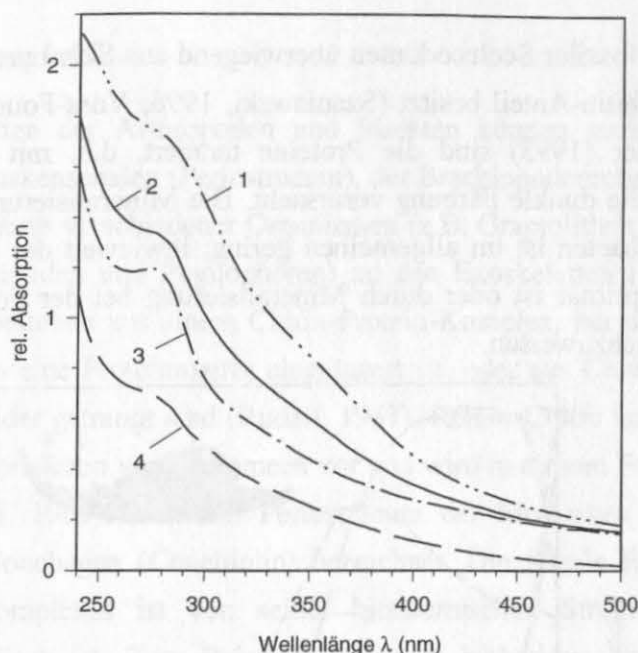


Abb. 49: Absorptionsspektren von Eier und Dauerstadien aus einer Oberflächenprobe der Lübecker Bucht (Probe LB 3) und eines Bryozoen-Statoblast aus einem Süßwassertümpel von Essingen bei Aalen: 1) Turbellarien-Ei; 2) *Halodinium*; 3.) Copepoden-Ei; und 4.) Statoblast (*Plumatella*).

6.6.2. Scolecodonten

Scolecodonten sind Zahn- und Kieferelemente, die den Conodonten morphologisch ähnlich sind. Im Gegensatz zu den aus Kalziumphosphat bestehenden Conodonten, die in der Trias ausgestorben sind, bestehen die Scolecodonten überwiegend aus organischem Material und entsprechen den Kieferorganen der heutigen Polychaeten. Sie werden im allgemeinen zwei verschiedenen Ordnungen zugewiesen: den Eunicida mit komplexen Kieferapparaten, die auch fossil bekannt sind (Jansonius & Craig, 1974; Kielan-Jaworowska, 1966; Kozłowski, 1956; u.a.), und den Phyllodocida, die meist einfache Haken oder Kiefer bzw. Kieferzangen besitzen (Jansonius & Craig, 1971; Schwab, 1966; Szaniawski, 1996; u.a.). Eine pauschale Zuordnung der rezenten und fossilen dispersen Scolecodonten zu den Polychaeten ist jedoch fraglich, da eine Reihe weiterer Organismen unterschiedlicher systematischer Stellung ähnliche fossilisierbare Greifwerkzeuge besitzen. Zum Beispiel gibt es bei den Kieferzangen der rezenten Nereidae (Phyllodocida) ähnliche Formen wie bei den Onychophora (kleine wurmförmige Articulaten), in der Radula der Aplacophora (Mollusca) oder in den Mandibeln der Chironomidenlarven (Diptera, Insecta, siehe Kap. 6.6.3.), welche in holozänen Seesedimenten als Klimaindikatoren verwendet werden (Hofmann, 1988; 1993; Walker et al., 1991; u.a.).

Im Gegensatz zur Ultrastruktur der Scolecodonten (Corradini et al., 1974; Strauch, 1973) ist über deren chemische Zusammensetzung und diagenetische Veränderung noch wenig bekannt. Als gesichert kann jedoch gelten, daß die organische Grundmatrix sowohl

rezenter als auch fossiler Scolecodonten überwiegend aus Skleroproteinen besteht und nur einen geringen Chitin-Anteil besitzt (Szaniawski, 1996; Voss-Foucart et al., 1973). Nach Hartmann-Schröder (1993) sind die Proteine tanniert, d.h. mit komplexen Aromaten kombiniert, was die dunkle Färbung verursacht. Die Mineralisierung der rezenten Kieferorgane der Polychaeten ist im allgemeinen gering; inwieweit der hohe Mineralanteil bei fossilen Formen primär ist oder durch Mineralisierung bei der Fossilisation erfolgte, ist nicht eindeutig nachzuweisen.

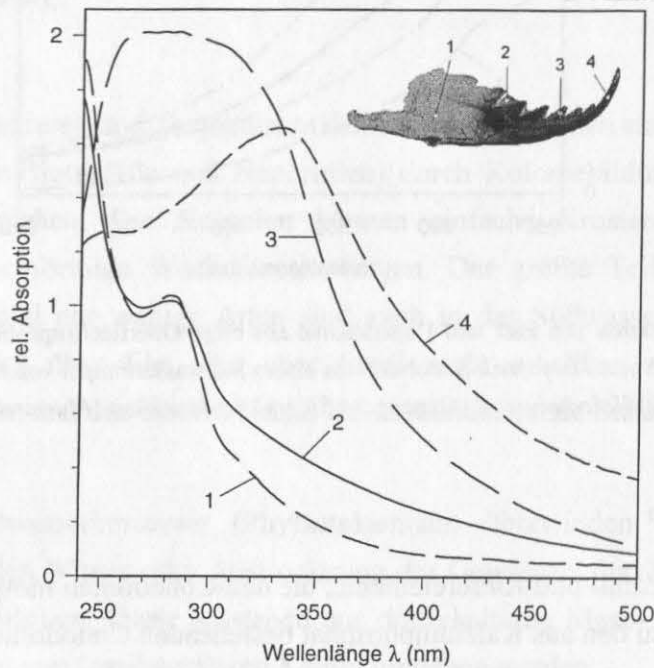


Abb. 50: Absorptionsspektren einer Kieferzange (Scolecodont) eines rezenten Anneliden (*Nereis*). Die Meßpunkte der verschiedenen Absorptionsspektren sind in der eingefügten Abbildung angegeben. Die von Bindegewebe eingeschlossenen Bereiche der Kieferzange (Meßpunkte 1 und 2) sind farblos, hyalin und besitzen Fluoreszenz. Das Absorptionsspektrum entspricht dem des Chitins. Zum distalen Ende der Kieferzange (Meßpunkt 4) zeigt sich eine deutliche Verschiebung des Absorptionsmaximums in den längerwelligen Bereich, der auf sukzessiven Einbau polymerer Aromate zurückgeführt werden kann.

Die Absorptionsspektren von rezenten Polychaeten-Kieferzangen zeigen eine kontinuierliche Veränderung der chemischen Zusammensetzung in Abhängigkeit von der Lage innerhalb der Kieferzange, die auf die unterschiedliche Belastung und der damit verbundenen funktionschemischen Anpassung der einzelnen Teilbereiche zurückzuführen ist (Abb. 50). Die mit Bindegewebe bedeckten Bereiche der Kieferzange sind hyalin, und die Absorptionsspektren (Spektren 1&2) entsprechen weitgehend denen von Chitin-Protein-Komplexen. Der freiliegende Teil der Kieferzange ist dunkelbraun gefärbt, besitzt keine Autofluoreszenz, und das Absorptionsmaximum verschiebt sich zum distalen Ende hin in den längerwelligen Bereich, was auf die "Tannierung" im Sinne von Hartmann-Schröder (1993) zurückzuführen ist.

6.6.3. Exoskelette sensu lato

Außer den Exoskeletten der Arthropoden und Insekten können auch die organischen Bestandteile der Molluskenschalen (Periostracum), der Brachiopodenschalen, aber auch die Wohnröhren und Gehäuse verschiedener Organismen (z.B. Graptolithen oder Wohnröhren von Scyphozoen, Anneliden und Pognophoren) zu den Exoskeletten im weiteren Sinne gezählt werden. Sie bestehen aus einem Chitin-Protein-Komplex, bei dem das Chitin als feine Mikrofibrillen in eine Proteinmatrix eingelagert ist, oder aus Chitinlagen, die durch Proteinlagen voneinander getrennt sind (Rudall, 1967). Reines Chitin kommt in der Natur praktisch nur in den Fortsätzen von Diatomeen vor und wird in diesem Fall auch als Chitan bezeichnet (Blackwell, 1969). Bei dem Periostracum der Mollusken wird der Chitin-Proteinkomplex als Conchagen (Conchiolin) bezeichnet. Die fossile Erhaltungsfähigkeit des Chitin-Protein-Komplexes ist von seiner biochemischen Struktur abhängig, die wiederum taxonspezifisch ist. Zum Beispiel sind nach bisherigen Untersuchungen die Exoskelette der Copepoden praktisch nicht erhaltungsfähig, während die der Cladoceren ein hohes Fossilisationspotential besitzen (Frey, 1964).

Entsprechend ihrer fossilen Erhaltungsfähigkeit und Häufigkeit sind vor allem die Kopfkapseln der Chironomiden und die Kopfschilde und Schalen der Cladoceren in Süßwassersedimenten bearbeitet. Diese organisch-wandigen Mikrofossilien sind sehr gute Indikatoren für Klimaänderungen und Eutrophierung, da sie als aquatische Organismen in Seen praktisch keiner Verfrachtung unterliegen und dadurch höchstauflösend die Dynamik des jeweiligen Ökosystems widerspiegeln (Hofmann, 1993; Walker et al., 1991; Whiteside & Swindoll, 1988; u.a.). Im mikroskopischen Bereich sind Bruchstücke von Brachiopodenschalen, Periostraca und anderen größeren Organismen nur anhand der morphologischen Kriterien praktisch nicht zu unterscheiden und deshalb in der palynologischen Literatur nicht weiter erwähnt.

In der anorganischen Matrix von Makrofossilien sind Chitin und Protein erhaltungsfähig, was von verschiedenen Autoren durch konventionelle chemische Untersuchungen und in jüngerer Zeit auch durch Antikörpermarkierung nachgewiesen ist (Collins et al., 1991; Florkin, 1969; Muyzer & Westbroek, 1989; u.a.). Eine direkte Differenzierung zwischen Chitin und Protein anhand der Absorptionsspektren ist praktisch ohne chemische Hilfsmittel nicht möglich, da beide Substanzen ein Absorptionsmaximum bei 277nm bis 278nm besitzen. Eine chemische Unterscheidung kann jedoch an der Carboxylgruppe vorgenommen werden welche nur bei den Proteinen vorhanden ist, und spektralphotometrisch durch Enaminbildung nachgewiesen werden kann (siehe Kap. 5.2.5.). Nach der Behandlung von Protein mit Pyrrolidin wird das Absorptionsmaximum durch die Bildung eines "Protein-Enamins" von 277nm nach 285nm verschoben und kann durch hydrolytische Abspaltung mit verdünnter Salzsäure wieder in seine Ausgangsposition

zurückgebracht werden (Abb. 51). Bei einem Chitin-Protein-Gemisch, wie es zum Beispiel in Insektenflügeln vorkommt, bleibt nach der Pyrrolidinbehandlung das Absorptionsmaximum bei 278nm erhalten. Es besteht jedoch eine deutliche Absorptionsintensitätszunahme oberhalb 280nm die durch Hydrolyse wieder rückgängig gemacht werden kann und somit ein direkter Proteinnachweis ist (Abb. 52). Auffallend bei dem "Chitin-Protein-Enamin" ist, daß im Gegensatz zu reinem Protein das Absorptionsminium von 258nm nach 265nm verschoben wird, was auf weitere komplexe chemische Vorgänge im Chitin-Protein-Biopolymer der Insektenflügel hinweist. Dies kann zum Beispiel durch das Vorhandensein weiterer Substanzen mit Carboxyl-Gruppen erklärt werden, deren Absorptionsmaximum durch die Enaminbildung in den Wellenlängenbereich 250nm bis 260nm verschoben wird.

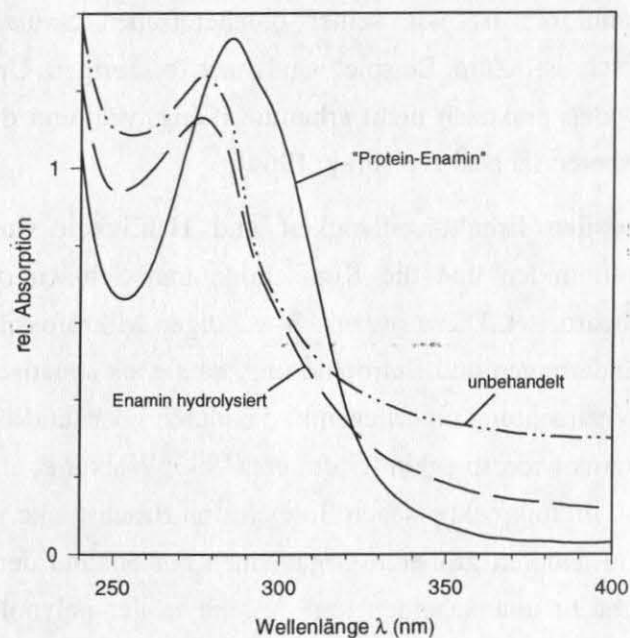


Abb. 51: Absorptionsphotometrischer Nachweis von Protein durch Enaminbildung an einer Möwenfeder (*Larus* sp.). Durch Behandlung des Keratins mit Pyrrolidin verschiebt sich das Absorptionsmaximum von 277nm nach 285nm, was durch Abspaltung des Pyrrolidinrests von dem Keratinmolekül mittels schwacher Hydrolyse mit HCl wieder auf seinen Ausgangswert zurückgebracht werden kann.

Aufgrund der bisherigen Untersuchungen ist zu vermuten, daß Chitin bei den Invertebraten eine der Cellulose und dem Lignin der Pflanzen vergleichbare Rolle bei den gerüstbildenden Biopolymeren spielt. Wie sich in den Absorptionsspektren der verschiedenen Exoskelette, Dauerstadien und Eier abzeichnet ist hierbei mit ähnlich komplexen chemischen Variationen und Kombinationen des Chitins zu rechnen, wie es bereits von Cutin oder Sporopollenin bekannt ist. Daß auch hier "funktionschemische Prinzipien" eine große Rolle spielen, zeigt zum Beispiel die Ähnlichkeit der Absorptionsspektren, und somit auch der chemischen Konstitution, von Anneliden-Kiefern und den Mundwerkzeugen von Fliegenlarven (vergl. Abb. 50 und 53).

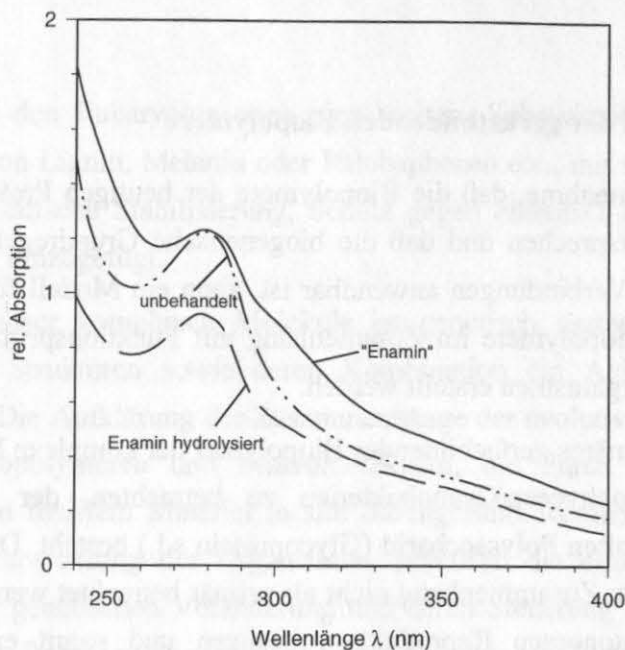


Abb. 52: Absorptionsphotometrischer Nachweis von Protein in einem Insektenflügel (*Libellula* sp.). Aufgrund der Ähnlichkeit kann das Absorptionsspektrum von Chitin und Protein nicht unterschieden werden. Durch Enaminbildung ist es jedoch möglich, das Absorptionsspektrum des Proteins um 8 nm in den längerwelligen Absorptionsbereich zu verschieben und durch Hydrolyse wieder umzukehren. Im Gegensatz zu reinem Protein (vergl. Abb. 51) bleibt bei diesem Verfahren bei Chitin-Proteinkomplexen das Absorptionsmaximum bei 278nm erhalten, die Absorptionsintensität erhöht sich jedoch im Bereich zwischen 290nm und 330nm entsprechend dem Proteinanteil.

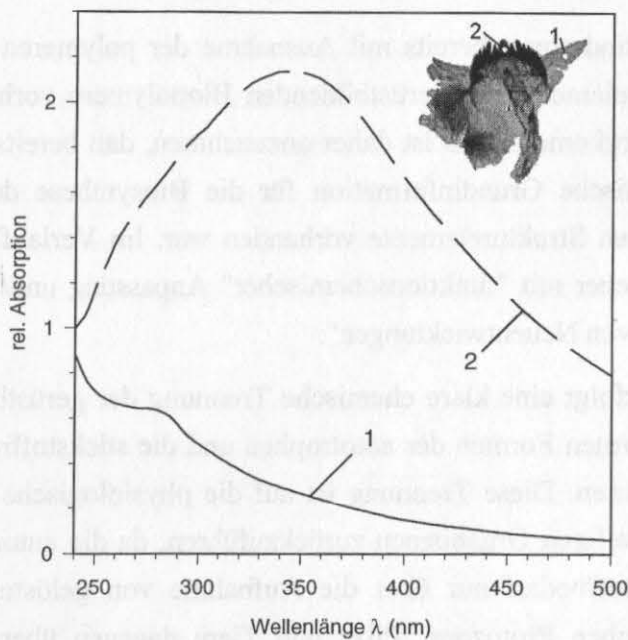


Abb. 53: Absorptionsspektren des Mundwerkzeugs einer Fliegenlarve. Ebenso wie bei Scolecodonten bzw. der Kieferzange von *Nereis* kann hierbei in einen hyalinen, farblosen Bereich (1) mit einem für Chitin-Proteinkomplexe typischen Absorptionsspektrum und in einen dunkelbraunen Bereich (2) mit einem Absorptionsspektrum das auf polymere Aromate hinweist differenziert werden.

6.7. Evolutionsmodell der gerüstbildenden Biopolymere

Ausgehend von der Annahme, daß die Biopolymere der heutigen Prokaryoten denen der ersten Organismen entsprechen und daß die biogenetische Grundregel Häckels auch für komplexe organische Verbindungen anwendbar ist, kann ein Modell für die Entwicklung der gerüstbildenden Biopolymere im Zusammenhang mit Funktionsprinzipien und Physiologie der jeweiligen Organismen erstellt werden.

Demzufolge ist als primäres gerüstbildendes Biopolymer der komplexe Mureinsacculus der Bakterien und Cyanophyceen/Cyanobakterien zu betrachten, der aus einem durch Peptidbrücken verknüpften Polysaccharid (Glycoprotein s.l.) besteht. Die Peptidhüllen der Viren können in diesem Zusammenhang nicht als primär betrachtet werden, da Viren nicht die Fähigkeit zur autonomen Reproduktion besitzen und somit entweder reduzierte Organismen sind oder evolutionäre Neubildungen, was aber das Vorhandensein von reproduktionsfähigen Organismen voraussetzt.

Das Murein kann prinzipiell in zwei Grundbausteine zerlegt werden, die aus Aminosäuren aufgebauten Peptide und als zweites Element die Polysaccharide, welche auf Chitin bzw. Cellulose zurückgeführt werden können. Bei autotrophen Prokaryoten werden als ergänzender Grundbaustein Lipide eingebaut, die meist mit Polysacchariden verknüpft sind (Lipopolysaccharide) und deren Biosynthese überwiegend über Zwischenprodukte der Photosynthese erfolgt.

Bei den Prokaryoten sind somit bereits mit Ausnahme der polymeren Aromate (Lignin) praktisch alle Strukturelemente der gerüstbildenden Biopolymere vorhanden die auch in Pflanzen und Tieren vorkommen. Es ist daher anzunehmen, daß bereits bei den frühesten Organismen die genetische Grundinformation für die Biosynthese der gerüstbildenden Biopolymere bzw. deren Strukturelemente vorhanden war. Im Verlauf der Evolution der Organismen ist daher eher mit "funktionschemischer" Anpassung und/oder Reduktion zu rechnen als mit "evolutiven Neuentwicklungen".

Bei den Eukaryoten erfolgt eine klare chemische Trennung der gerüstbildenden Biopolymere in die stickstoffarmen Formen der autotrophen und die stickstoffreichen Formen der heterotrophen Organismen. Diese Trennung ist auf die physiologische Verfügbarkeit des Stickstoffs für die jeweiligen Organismen zurückzuführen, da die autotrophen Algen und Pflanzen ihren Stickstoffbedarf nur über die Aufnahme von gelösten Nitraten decken können, die heterotrophen Protozoen, Pilze und Tiere dagegen über die konsumierten organischen Stoffe. Daraus resultiert eine prinzipielle "Stickstoffunterversorgung" bei autotrophen und eine "Stickstoffübersversorgung" bei heterotrophen Organismen. Dies äußert sich in der Verwendung von stickstoffarmen bzw. stickstofffreien Polysacchariden und Lipiden bei den Algen und Pflanzen und von stickstoffreichen Proteinen und Chitin bei Pilzen und Tieren als gerüstbildende Substanzen. Zu den Polysacchariden, Lipiden und

Proteinen wird bei den Eukaryoten noch eine weitere Substanzgruppe, die polymeren Aromate in Form von Lignin, Melanin oder Phlobaphenen etc., mit vielfältigen Aufgaben wie zum Beispiel statische Stabilisierung, Schutz gegen chemisch-biologische Einflüsse oder UV-Strahlung, hinzugefügt.

Die Biosynthese dieser komplexen Moleküle ist genetisch gesteuert, weshalb in der Veränderung ihrer Strukturen sowie deren Kombination ein Abbild der genetischen Evolution vorliegt. Die Aufklärung der Zusammenhänge der evolutiven Prinzipien bei den gerüstbildenden Biopolymeren und Makromolekülen, die durch die Mikro-Spektralphotometrie auch an fossilem Material in situ durchgeführt werden kann, ist neben der morphologischen Entwicklung der Organismen, praktisch die einzige Möglichkeit für einen Nachweis der genetischen Veränderung und deren Steuerung durch die Umwelt in einem realisierbaren Rahmen. Die Mikro-Spektralphotometrie bietet daher die Chance, unabhängig bzw. parallel zur morphologischen Evolution der Organismen auch die chemische Entwicklung und Konvergenzen an fossilem Material nachzuweisen, was für das Verständnis der kausalen Prinzipien der genetischen Veränderungen und deren Evolution unabdingbar ist.

7. Anwendungsbeispiele für die Mikro-Absorptionsphotometrie von *Pinus*-Pollen

Daß eine Differenzierung unterschiedlicher Faziesbereiche anhand der Mikro-Absorptionsphotometrie mit Pollen, Kutikulen oder Holzresten problemlos möglich ist, konnte bereits in vorangegangenen Beispielen gezeigt werden (siehe Abb. 11; 40; 41; 44). Die zentrale Frage für die Anwendungsmöglichkeiten der Mikro-Absorptionsphotometrie ist, inwieweit durch diese Methode neue und zusätzliche Differenzierungs- und Interpretationsmöglichkeiten für Paläo-Umwelt- und Klimaentwicklung erschlossen werden können, die über bisherigen sedimentologischen, mikro- und makropaläontologischen Analysemöglichkeiten hinausgehen, und bis in welche Dimensionen der zeitlichen Auflösung die Mikro-Absorptionsphotometrie angewendet werden kann.

Damit diese Fragen bereits im Anfangsstadium der Entwicklung der Mikro-Absorptionsphotometrie organisch-wandiger Mikrofossilien bearbeitbar sind, ist es erforderlich, die Untersuchungen auf das Biopolymer eines einzigen Taxons zu beschränken, um Fehlinterpretationen durch unterschiedliches chemisches Verhalten zu vermeiden. An das Taxon ist die Anforderung zu stellen, daß es möglichst kosmopolitisch sowohl in terrestrischen als auch in fluviatil-limnischen und marinen Sedimenten in ausreichender Anzahl für quantitative Untersuchungen vorkommt. Diesen Anforderungen kommen die Pollen von *Pinus* am nächsten, da sie durch die hohe Pollenproduktion der Mutterpflanze und durch ihre sehr guten Flugeigenschaften in ausreichender Anzahl in den meisten tertiären und rezenten Sedimenten vorhanden sind. Das Absorptionsspektrum der *Pinus*-Pollen ist daher nicht nur für vergleichende Faziesuntersuchungen besonders geeignet, sondern es ist auch ein optimales Referenz- und Eichspektrum für chemischen Veränderung des Sporopollenins verschiedener Taxa in unterschiedlichen Faziesbereichen. Ebenso wichtig ist das *Pinus*-Pollen Absorptionsspektrum zur Korrelation der Spektren anderer organisch-wandiger Mikrofossilien, die nur in spezifischen Biotopen respektive Sedimenten vorkommen.

Für einen praxisorientierten Test zur Anwendbarkeit der Mikro-Absorptionsphotometrie sind einförmige Sedimentabfolgen, die sedimentphysikalisch und -chemisch nicht weiter aufgeschlüsselt werden können, besonders geeignet. Zur Klärung der Frage, ob auch in uniformen Sedimenten noch biostratonomische Differenzierungen gemacht werden können, wurde ein Sedimentkern aus der Kieler Förde ausgewählt, der sich durch einheitliches Schlicksediment im oberen Bereich und einheitlichen siltigen Torf an der Basis auszeichnet. Um das zeitliche Auflösungsvermögen der Methode zu eruieren, wurden Warvensedimente aus dem Belauer See im Halb- und Vierteljahresabstand beprobt, um nicht nur jährliche, sondern auch saisonale Veränderungen der Biopolymere absorptionsphotometrisch erfassen zu können.

7.1. Variation der Absorptionsspektren von *Pinus*-Pollen in postglazialen Sedimenten der Kieler Förde

Die Beltsee, Kieler Bucht und Mecklenburger Bucht bildeten bis zum beginnenden Atlantikum (Litorina-Transgression) einen ausgedehnten Festlandsbereich, der durch Süßwasserseen und ein ausgeprägtes Rinnen- und Rückensystem charakterisiert war (Werner & Willkomm, 1970; Winn et al., 1982; Atzler, 1995; u.a.). Die marinen Sedimente bestehen in den durch die Rinnen vorgeprägten Teilbecken überwiegend aus Schlick, die sich aufgrund ihrer Einförmigkeit besonders gut für diese Initialuntersuchungen eignen.

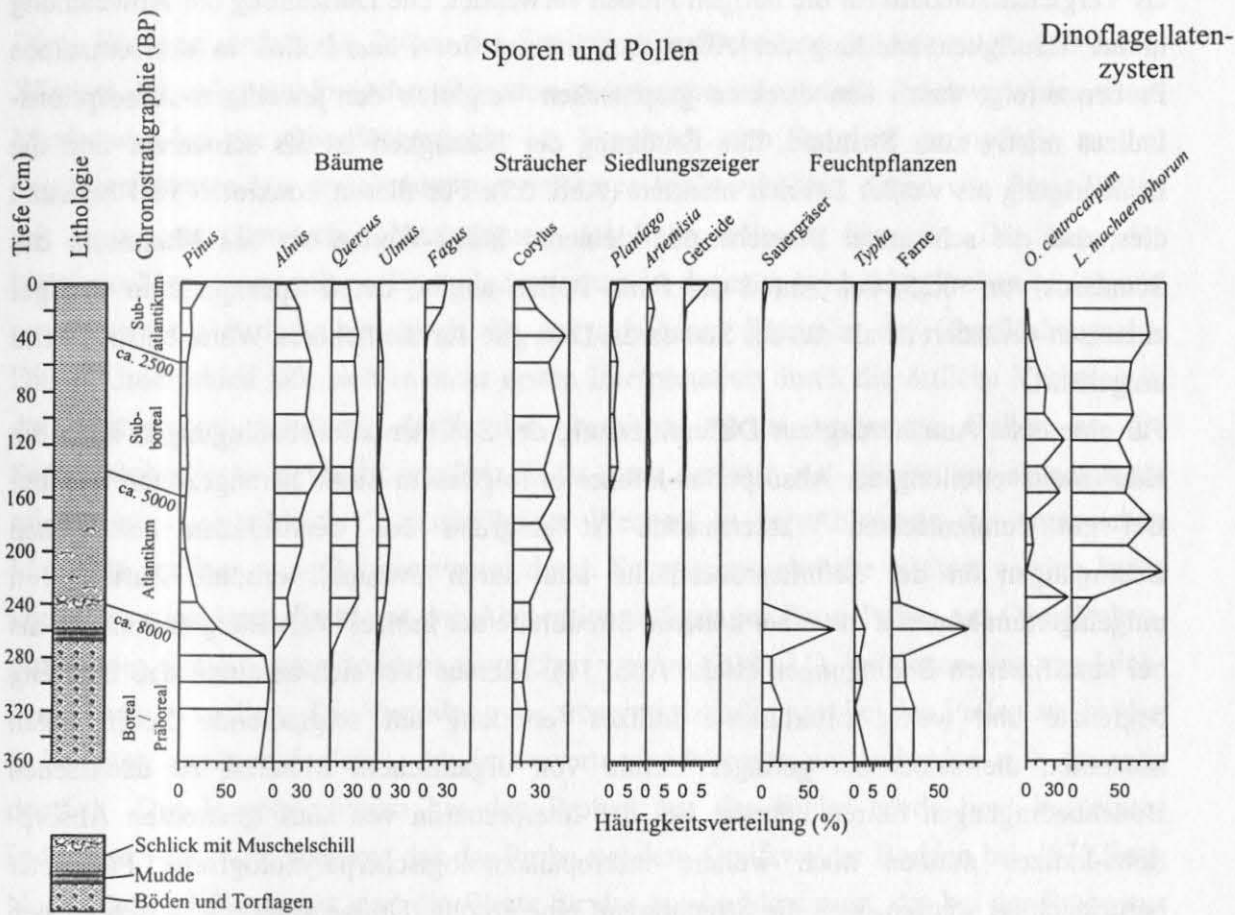


Abb. 54: Stratigraphische Gliederung des Kerns KF2. Die Prozentwerte der Häufigkeitsverteilung bei den Sporen und Pollen beziehen sich auf die Baumpollen, deren Summe jeweils als 100% berechnet ist. Die Angaben für die Dinoflagellatenzysten beziehen sich nur auf die Anteile der Zysten, deren Summe ebenfalls separat als 100% berechnet ist.

Für einen ersten Test der Anwendbarkeit der Mikro-Spektralphotometrie wurden ein Schwerelotkern aus der Heikendorfer Bucht in der Kieler Förde (KF2: 54°22,64 N, 10°11,33 E; Wassertiefe 15 m) und die Sedimentoberfläche (0-0,5 cm) eines Backengreifers von derselben Lokalität, die im Rahmen des Projektes SEDOST (Hoffmann, unpubl.) genommen wurden, ausgewählt. Die biostratigraphische Einordnung des Kerns (Abb. 54) erfolgt anhand der Pollenanalyse (Hoffmann, unpubl.) und Dinoflagellaten-Zysten-

Stratigraphie (Matthiessen, unpubl.) sowie nach radiometrischen ^{14}C Vergleichsdaten der entsprechenden Sedimente aus der Kieler Bucht (Milkert & Brenner, unpubl.).

Die Analyse der chemischen Veränderung des *Pinus*-Sporopollenins in den einzelnen Proben erfolgt anhand der Absorptions-Indizes, die eine Aussage über die biochemische Abbausituation von organischem Material in den Sedimenten erlauben. Um die Variationsbreite der Veränderungen und deren Verteilung miteinander vergleichen zu können, wurde aus den beiden jüngsten Proben, welche die Sedimente der letzten 100 bis 200 Jahre umfassen die durchschnittliche Häufigkeitsverteilung der Absorptions-Indizes ermittelt und als Vergleichsstandard für die übrigen Proben verwendet. Die Darstellung der Abweichung in der Häufigkeitsverteilung der Absorption-Indizes der *Pinus*-Pollen in den einzelnen Proben erfolgt durch den direkten graphischen Vergleich der jeweiligen Absorptions-Indizes relativ zum Standard. Die Erhöhung der Häufigkeit ist als schwarzer und die Erniedrigung als weißer Bereich markiert (Abb. 55). Für diesen konkreten Fall bedeutet dies, daß die schwarzen Bereiche mit kleineren Index-Werten als das Maximum des Standards von -0,25, den Anteil der *Pinus*-Pollen angibt, deren Sporopollenin weniger chemisch verändert ist als das des Standards. Dies gilt für die höheren Werte entsprechend umgekehrt.

Für eine erste Annäherung zur Differenzierung der Sedimentationsbedingungen kann die Häufigkeitsverteilung der Absorptions-Indizes in folgendem Sinne herangezogen werden: Bei gut durchmischten Wassermassen ist aufgrund der wechselnden chemischen Bedingungen an der Sedimentoberfläche und durch eventuell erhöhte Zufuhr von umgelagertem Material mit einer höheren Streubreite der Indizes-Verteilung zu rechnen als bei stratifizierten Bedingungen (siehe Abb. 11). Hieraus läßt sich ableiten, daß eine eng begrenzte und wenig strukturierte Indizes-Verteilung auf stagnierende Bedingungen hindeutet, die selbst bei geringer Zufuhr von organischem Material zu anoxischen Bodenbedingungen führen können. Bei der Interpretation von stark gestreuten Absorptions-Indizes müssen noch weitere mikropaläontologische/palynologische Parameter berücksichtigt werden, weil die Streuung auf eine erhöhte Umlagerung mit verschiedenen Liefergebieten ebenso zurückgeführt werden kann wie auf saisonale oder langjährige Schwankungen.

In der Abfolge der Indizes-Verteilung in den einzelnen Proben kann für einzelne Abschnitte eine gerichtete Veränderung festgestellt werden, bei denen der Anteil von chemisch weniger zu chemisch stärker veränderten Pollen wechselt. Weiter kann zwischen einer eher diffusen (z.B. Proben bei 40 cm; 100 cm, 320 cm) bis zu einer bimodalen (z.B. Proben bei 1,5 cm; 120 cm; 200 cm) und einer uniformen (Probe bei 160 cm) Verteilung der Absorptionsindizes der Indizeshäufigkeitswerte unterschieden werden. Diese Abfolgen repräsentieren stratigraphische Einheiten und sind hier als "*Pinus*-Absorptions-Sequenzen" (PAS) bezeichnet (Abb. 55).

Als Basis der einzelnen Sequenzen wurde jeweils die Probe mit der größten Streubreite der Häufigkeitsverteilung der Absorptionsindizes und/oder mit der geringsten chemischen Veränderung ausgewählt (höhere Häufigkeit der negativen Indexwerte). Eine PAS umfaßt somit eine Abfolge mit zunehmender Intensivierung der chemischen Veränderung der *Pinus*-Pollen und/oder eine abnehmende Durchmischung des Sediments, die direkt an hydrographisch-klimatische Wechsel gebunden ist.

PAS I (0 cm bis 1,5 cm)

Diese Sequenz umfaßt die Pollen der Sedimentoberfläche und der letzten ca. 100 Jahre. Wie aus der sedimentologischen Situation zu erwarten ist, sind die Indexwerte des ersten Maximums bei der Oberflächenprobe im Vergleich zum Standard geringfügig zu den negativen Werten hin verschoben was auf einen leicht erhöhten Anteil von *Pinus*-Pollen mit geringerer chemischer Veränderung des Sporopollenins hinweist. Die Lage des kleineren Maximums mit positiven Indexwerten ist dagegen bei beiden Proben gleich und unterscheidet sich lediglich durch die etwas höheren Werte in der Oberflächenprobe. Dieser Unterschied läßt sich in einer ersten Interpretation durch die örtliche Variation in der Bioturbation erklären, durch die chemisch stärker veränderte Pollen an die Sedimentoberfläche gebracht werden. Es ist auch denkbar, daß hierbei ein ausgeprägter saisonaler oder (zyklischer?) mehrjähriger Wechsel in der Abbaurate des organischen Materials vorliegt, was Beispielsweise durch Salzwassereinbrüche initiiert werden kann. Diese Situation kann direkt mit den Absorptionsindizes der *Pinus*-Pollen aus Oberflächenproben des Greifswalder Boddens verglichen werden (Abb. 11), bei denen eine vergleichbare Situation vorliegt. Die Verteilung der Absorptionsindizes ist bei den Pollen aus beiden Lokalitäten annähernd gleich, die Indexwerte der Maxima unterscheiden sich dagegen deutlich. Das Hauptmaximum bei den Proben aus der Kieler Förde liegt bei einem Indexwert von -0,25, während das der Probe aus dem Greifswalder Bodden bei -0,75 liegt. Noch stärker differenziert sind die Werte für das zweite Maximum, das bei der Probe aus dem Greifswalder Bodden bei +1, bei denen aus der Kieler Förde bei +2,25 liegt. Folglich sind die *Pinus*-Pollen aus der Kieler Förde stärker chemisch verändert als die aus dem Greifswalder Bodden, und die Diskrepanz zwischen den beiden Indizes-Maxima ist bei denen aus der Kieler Förde wesentlich größer.

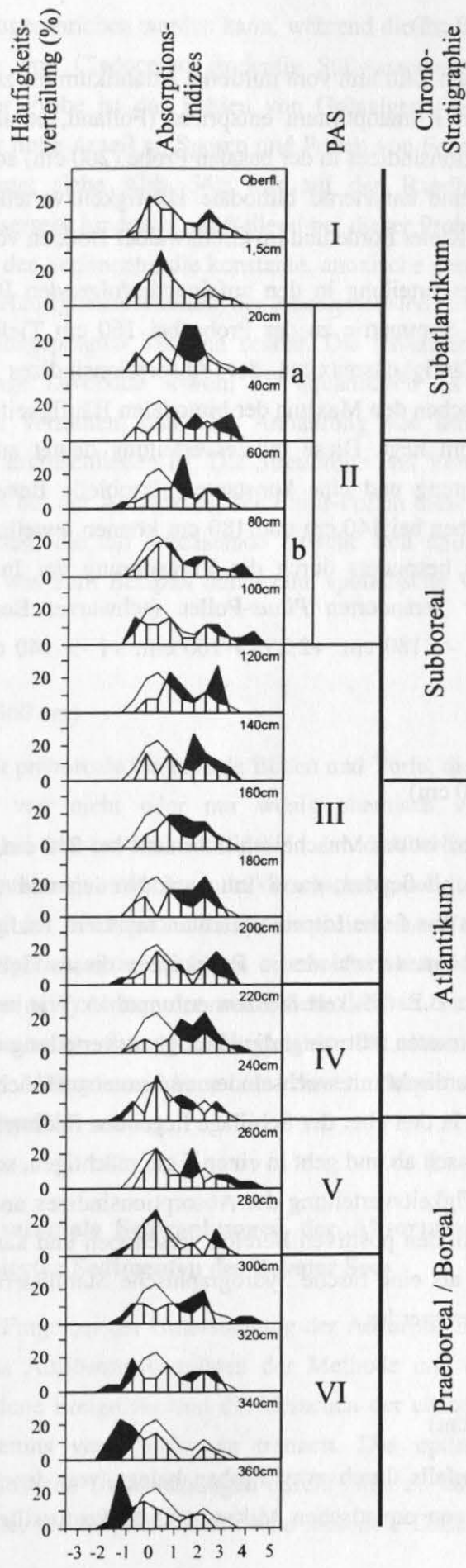
PAS II (20 cm bis 100 cm)

Diese Sequenz umfaßt die Sedimente vom "mittleren und jüngeren" Subboreal (PAS IIa) und das Subatlantikum (PAS IIb). An der Basis (Probe bei 100 cm) zeichnet sich die Verteilung der Absorptionsindizes durch eine extreme Streuung aus, die auf ein breites

Spektrum von Liefergebieten oder stark wechselnde Abbaubedingungen für die gemessenen *Pinus*-Pollen hinweisen. Die Absorptionsindizes zeigt hierbei eine Verteilung die sich mit derjenigen in der südöstlichen Nordsee vergleichen läßt (siehe Abb. 11). Ein erhöhter fluviatiler Eintrag von Material liegt für diesen Bereich jedoch nicht vor, was sich durch das Fehlen der entsprechenden Algen (z.B. *Pediastrum*, *Scenedesmus*, *Staurastrum*, u.a.) in dieser Probe belegen läßt. Der erhöhte Eintrag von *Pinus*-Pollen aus unterschiedlichen Faziesbereichen bzw. die unterschiedliche chemische Veränderung der Pollen ist daher entweder durch erhöhte Küstenerosion erklärbar oder durch ein wechselndes mikrobielles Ökosystem, das auf eine variierende Durchmischung und Durchlüftung der Sedimentoberfläche hindeutet (siehe Kap. 7.3.). Beide Interpretationsmöglichkeiten weisen jedoch auf eine gehäufte oder intensiverte Sturmtätigkeit in diesem Zeitabschnitt hin. In den beiden darüberliegenden Proben (80 cm und 60 cm) ist eine Verringerung der Streubreite der Absorptionsindizes bei einer gleichzeitigen Verschiebung der Maxima zu positiven Werten zu verzeichnen. Dies kann auf eine abnehmende Erosionstätigkeit und eine geringere Durchlüftung bzw. stabilere Schichtung des Wasserkörpers und/oder auf ein stabileres mikrobielles benthisches Ökosystem zurückgeführt werden. Da in den letzten 3-4000 Jahren keine erhebliche Schwankung des Wasserspiegels und somit der Wellenbasis in der südlichen Ostsee stattfand (Duphorn, 1979; Kliewe & Janke, 1982; Winn, et al., 1986; u.a.), ist die verminderte Erosion und/oder eine verminderte Durchmischung des Wasserkörpers und der Sedimenten überwiegend auf nachlassende Sturmhäufigkeit oder -intensität zurückzuführen.

Im oberen Sequenzbereich (PAS IIa), der das Subatlantikum umfaßt und nur durch zwei Proben belegt ist, kann keine weitere Untergliederung vorgenommen werden. Beide Proben (20 cm und 40 cm) zeigen eine deutliche Streuung der Absorptionsindizes bei gleichzeitiger Dominanz der chemisch stärker veränderten *Pinus*-Pollen (positive Indexwerte). Dies kann als Übergang oder Zwischenstufe in einer Absorptions-Sequenz interpretiert werden, die aufgrund des Probenabstandes nicht vollständig erfaßt wird. Es ist auch möglich, daß in dieser Sequenz häufig wechselnde Sedimentationsbedingungen vorliegen und dadurch keine gerichteten Veränderungen nachweisbar sind. Die Klärung dieser Fragen kann durch eine dichtere Beprobung der Sedimente und Reduktion des Zeitintervalls (siehe Kap. 7.2) in zukünftigen Untersuchungen gelöst werden.

Abb. 55: Häufigkeitsverteilung der Absorptionsindizes im Kern KF2 und deren Gliederung in PAS (*Pinus*-Absorptions-Sequenzen). Die Häufigkeitsverteilung der Absorptionsindizes der in der jeweiligen Probe gemessenen Absorptionsspektren ist in den verbundenen Säulendiagrammen dargestellt. Die Durchschnittsverteilung der Absorptionsindizes der PAS I wurde zum Vergleich in jedes Verteilungsdiagramm eingezeichnet. Bereiche, in denen die Häufigkeit der Absorptionsindizes relativ zum Durchschnitt erhöht sind, wurden als schwarze Flächen markiert, Bereiche mit geringeren Werten entsprechend durch weiße Flächen.



PAS III (120 cm bis 200 cm)

Diese Sequenz umfaßt den Zeitraum vom mittleren Atlantikum bis zum unteren Subboreal, welcher dem holozänen Klimaoptimum entspricht (Folland, et al., 1990; Schönwiese, 1979; u.a.). Die Absorptionsindizes in der basalen Probe (200 cm) sowie am Top (120 cm) der Sequenz besitzen eine annähernd bimodale Häufigkeitsverteilung wie sie auch im Oberflächenbereich der Kieler Förde und im Greifswalder Bodden vorhanden ist.

Die Abfolge der Indizesverteilung in den aufeinanderfolgenden Proben dieser Sequenz zeigen eine auffallende Symmetrie zu der Probe bei 160 cm Tiefe, die praktisch keine Differenzierung der Häufigkeitsmaxima der Absorptionsindizes aufweist, und deren einziges Maximum zwischen den Maxima der bimodalen Häufigkeitsverteilung der Proben bei 200 cm und 120 cm liegt. Diese Indizesverteilung deutet auf eine extrem stabile hydrographische Schichtung und eine konstante mikrobielle Besiedlung der Sedimentoberfläche hin. Die Proben bei 140 cm und 180 cm können jeweils als Übergangsbereich betrachtet werden, was besonders durch die Veränderung der Indexwertverteilung des Maximums der stärker veränderten *Pinus*-Pollen (schwarzer Bereich) zum Ausdruck kommt (200 cm: +2,75 -> 180 cm: +2,25 -> 160 cm: +1 -> 140 cm: +1,75 -> 120 cm: +2,75).

PAS IV (220 cm bis 240 cm)

Die Basis dieser Sequenz ist der Muschelschillhorizont bei 240 cm, welcher in der Kieler Förde und in dem anschließenden, ca. 8 km nach Norden und ca 20 km nach Osten gelegenen Schlickgebiet das frühe Litorina-Stadium markiert. Radiokarbondatierungen an Bivalven des Horizonts aus verschiedenen Bohrkernen dieses Gebiets ergaben ein Alter von 7100 bis 7300 Jahre B.P. (Milkert & Brenner, unpubl.). Wie bereits die Anreicherung von Muschelschalen vermuten läßt, zeigt die Häufigkeitsverteilung der Absorptionsindizes eine breite Streuung, die direkt mit wechselnden und sauerstoffreichen Bodenbedingungen korreliert werden kann. In den über der Schillage liegenden Sedimenten nimmt die Anzahl der Molluskenschalen rasch ab und geht in einen 5 cm mächtigen, schillfreien Horizont bei 220 cm über. Die Häufigkeitsverteilung der Absorptionsindizes und deren Maxima ist in diesem Horizont stark in den positiven Bereich verschoben und kann zusammen mit dem Fehlen von Mollusken als eine rasche hydrographische Stabilisierung nach der Litorina-transgression interpretiert werden.

PAS V (260cm bis 280cm)

Diese Sequenz ist ebenfalls durch zwei Proben belegt, von denen die Basis (280 cm), aufgrund des Fehlens von aquatischen Mikro- und Makrofossilien einem terrestrischen

Ablagerungsmilieu zugeschrieben werden kann, während die Probe bei 260 cm, wegen des gehäuftten Auftretens von Cladoceren eindeutig Süßwassersedimenten zuzuordnen ist. Signifikant bei dieser Probe ist das Fehlen von Grünalgen (*Pediastrum*, *Scenedesmus*, *Botryococcus*) und der hohe Anteil an Sporen und Pollen von Feuchtpflanzen (Sauergräser, Rohrkolben und Farne; siehe Abb. 54), was auf den Randbereich eines oligo- bis mesotrophen Süßwassersees hindeutet. Auffallend bei dieser Probe ist weiterhin, daß trotz der dunklen Färbung der Sedimente, die konstante, anoxische Sedimentationsbedingungen vermuten lassen, die Häufigkeitsverteilung der Absorptionsindizes ein breites Verteilungsspektrum mit zwei ausgeprägten Maxima besitzt. Die fehlenden Anzeichen für Bioturbation und die geringe Diversität sowohl der aquatischen als auch der terrestrischen Mikrofossilien lassen vermuten, daß eine Anhäufung von umgelagertem organischen Material weitgehend auszuschließen ist. Die Streubreite und Verteilung der Absorptionsindizes legt nahe, daß bei der Ablagerung der *Pinus*-Pollen dieser Probe unterschiedliche Bedingungen herrschten, die auf wechselnde oxische und anoxische Bedingungen im Sediment hindeuten, was zum Beispiel durch eine sporadische Wasserbedeckung erklärt werden kann.

PAS VI (300 cm bis 360 cm)

Diese Sequenz umfaßt präboreale bis boreale Böden und Torfe, die sich an der Basis durch einen hohen Anteil von nicht oder nur wenig chemisch veränderter *Pinus*-Pollen auszeichnen (Proben bei 360 cm und 340 cm). In den darüberliegenden Proben (320 cm und 300 cm) ist eine sukzessive zunehmende Verschiebung bei gleichzeitiger Streuung der Häufigkeitsverteilung der Absorptionsindizes zu positiveren Werten zu beobachten. Da bisher noch keine Vergleichsuntersuchungen an terrestrischem Material vorliegen und in terrestrischen Ablagerungssystemen der mikrobielle Abbau von organischem Material nicht direkt mit aquatischen Systemen vergleichbar ist, kann eine Interpretation der Veränderungen der Absorptionsindizes in dieser Sequenz erst nach weiteren Untersuchungen durchgeführt werden.

7.2. Jährliche und saisonale Schwankungen der Absorptionsspektren von *Pinus*-Pollen aus laminierten Sedimenten des Belauer Sees

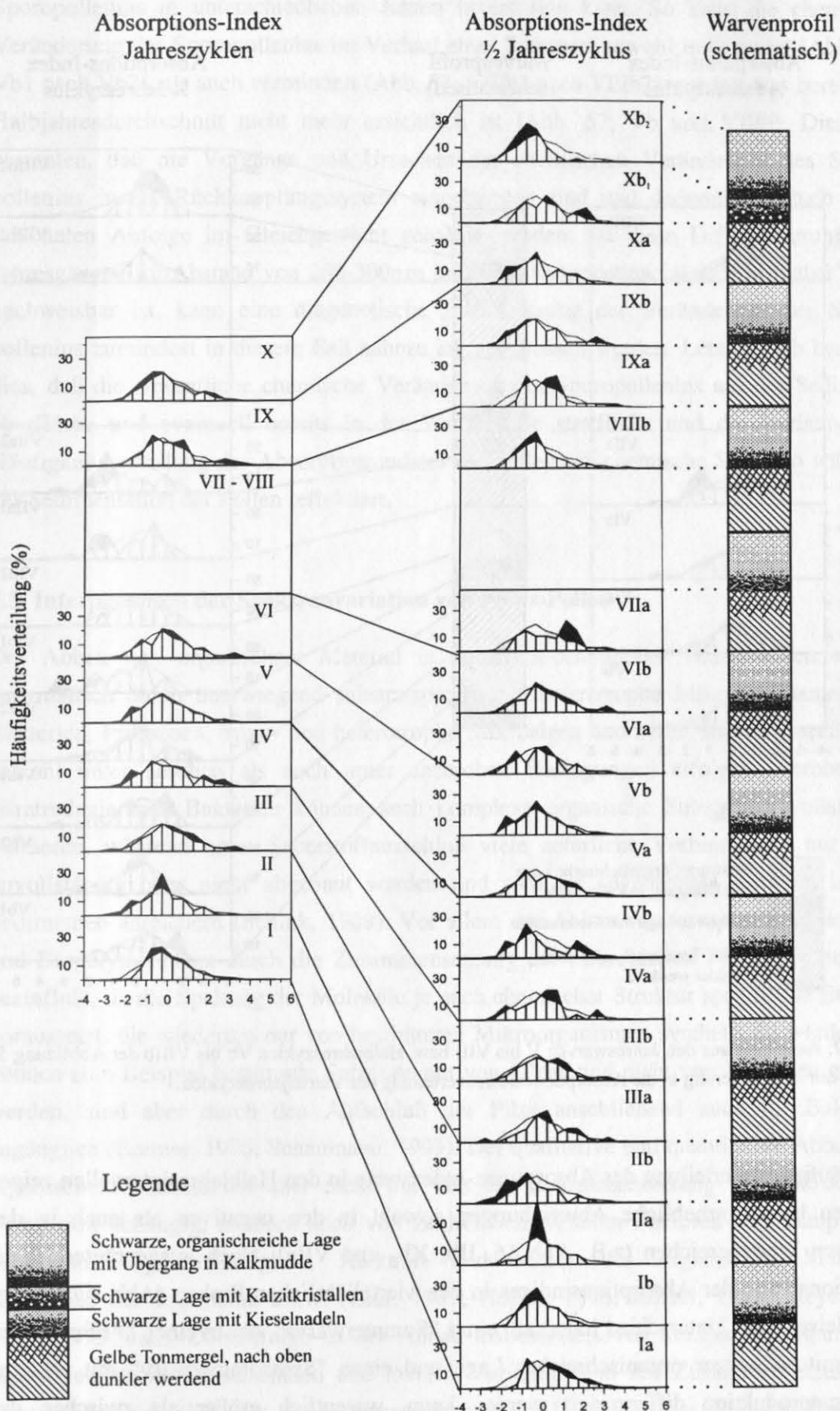
Eine weitere zentrale Frage bei der Untersuchung der Absorptionsveränderung von Pollen in Sedimenten ist das Auflösungsvermögen der Methode und die daraus resultierende Möglichkeit verschiedene Ereignisse und die Ursachen der chemischen Veränderung des jeweiligen Sporopollenins voneinander zu trennen. Das optimale Material, um entsprechende höchstauflösende Untersuchungen durchführen zu können, sind jahreszeitlich geschichtete Sedimente, die möglichst noch eine saisonale Differenzierung ermöglichen.

Diese kommen vor allem in anoxischen, marinen Becken und in Seen vor. Um die Wahrscheinlichkeit für eine Fehlinterpretation der Spektrenvariation, wie sie z.B. durch komplexe Umlagerungsvorgänge und wechselnde hydrographische Bedingungen verursacht werden, zu vermeiden, wurden für die vorliegende Untersuchung Sedimente aus dem Belauer See ausgewählt. Dieser ist heute mit einer Wasserfläche von 1,13 km² und einer Tiefe von 26 m der zweitgrößte und tiefste See der ca. 35 km südlich von Kiel gelegenen Bornhöveder Seenkette. Durch diese Lage ist der Sedimentkern aus dem Belauer See sowohl räumlich als auch zeitlich/klimatisch mit dem Kern KF2 vergleichbar.

Für die Beprobung wurde aus dem Sedimentkern der Bohrung Q 300 bei 22,79 bis 22,80 m unter Sedimentoberfläche (beginnendes Atlantikum) ein Subkern mit einem Durchmesser und einer Länge von jeweils 1 cm entnommen. Die Präparation der ca. 1 mm dicken einzelnen Jahreswarven wurde mit einem speziell für diese Beprobung angefertigten extra dünnen und spezialgehärteten Mikrospatel durchgeführt. Mit diesem wurden die farblich klar unterscheidbaren 200-500µm dicken Laminae einzeln manuell unter einem Binokular von dem Subkern abgehoben, was einem halb- bis vierteljährlichen Beprobungsintervall entspricht. Der Subkern, welcher eine Zeitspanne von 10 Jahren umfaßt, konnte in 26 Einzelproben zerlegt werden, die jeweils getrennt aufbereitet und bearbeitet wurden. Durch das massive Auftreten von Kieselnadeln (Schwammspiculae) im Sommerwarv des Jahres "VII" (Abb. 56), und der damit durch die Oberflächenvergrößerung verbundenen, schnelleren Austrocknung dieses Kernbereichs, konnte der darüberliegende Bereich des Jahres "VIII" nicht mehr abgetrennt und einzeln präpariert werden.

Abweichend von dem Verfahren in Kapitel 7.1. wurde der Standard der Häufigkeitsverteilung der Absorptionsindizes als Mittelwert aller Messungen des Zehn-Jahres-Intervalls berechnet. Die Absorptionsindexwerte des Standards besitzen eine nahezu gleichmäßige Verteilung mit einem Maximum bei einem Indexwert von -0,25, was eine annähernd konstante "Chemofazies" erwarten läßt. Die Häufigkeitsverteilung der Absorptionsindizes der einzelnen Jahre, die als Durchschnittswert der einzelnen Halb- und Vierteljahresproben berechnet wurde, scheint diese Annahme zu bestätigen, da im Vergleich zu den Proben aus der Kieler Förde (siehe Abb. 55) keine signifikanten Abweichungen zum Standard vorliegen.

Abb. 56: Häufigkeitsverteilung der Absorptionsindizes in einzelnen Warven aus dem Kern Belauer See Q 300 (22,79 bis 22,80 m). Die Durchschnitts- bzw. Standardverteilung (ungeteilte Kurve) berechnet sich aus dem Durchschnitt aller Einzelmessungen (932 Einzelpollen). Die Häufigkeitsverteilung der Absorptionsindizes (verbundene Säulen) der Jahreszyklen wurden aus der Summe der Halbjahres- bzw. Vierteljahreszyklen (siehe Abb. 57) berechnet. Bereiche, in denen die Häufigkeit der Absorptionsindizes relativ zum Durchschnitt erhöht sind, wurden als schwarze Flächen markiert, Bereiche mit geringeren Werten entsprechend durch weiße Flächen. Die Zuordnung der Proben zu den einzelnen Lagen der Warven ist aus dem schematischen Profil erkennbar.



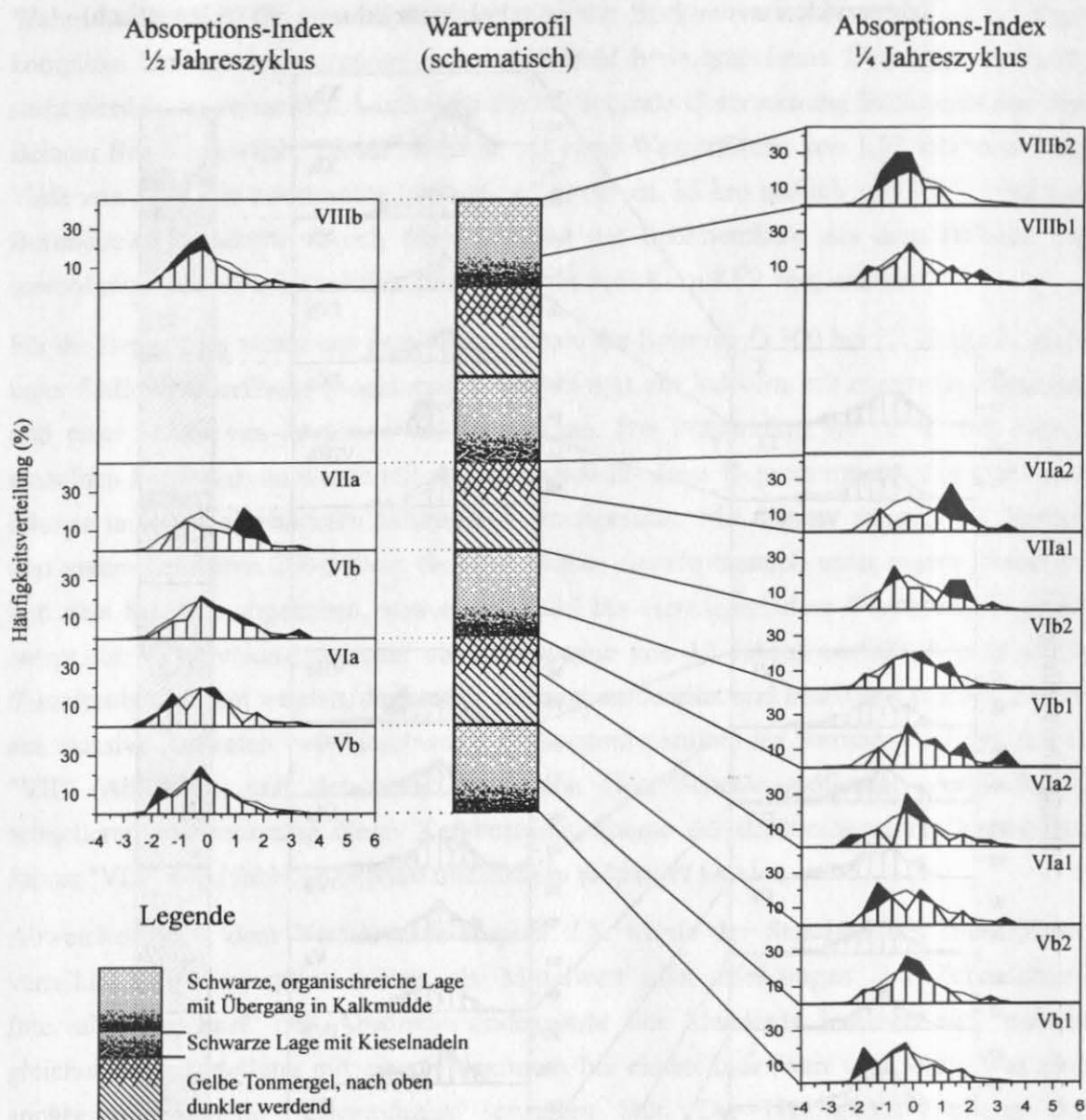


Abb. 57: Ausschnitt aus den Jahreswarven V bis VIII bzw. Halbjahreszyklen Vb bis VIIIb der Abbildung 56 mit Aufgliederung in die Absorptionsindizesverteilung der Vierteljahreszyklen.

Die Häufigkeitsverteilung der Absorptions-Indexwerte in den Halbjahresintervallen zeigen dagegen bereits erhebliche Abweichungen sowohl in den negativen als auch in den positiven Wertebereichen (z.B. Abb 56, IIb, Xb₂ und VIIa). Noch ausgeprägter ist die Variationsbreite der Absorptionsindizes in den vierteljährlichen Proben (Abb. 57). So ist zum Beispiel der Unterschied innerhalb eines "Sommerwarvs", der in einen "Frühsommerwarv" mit schwarzer organischreicher Lage und einen "Spätsommerwarv" mit erhöhter Karbonatproduktion differenziert werden kann, wesentlich größer als zwischen den einzelnen Jahren. Besonders auffallend ist hierbei, daß die chemische Veränderung des

Sporopollenins in unterschiedlichen Jahren invers sein kann. So kann die chemische Veränderung des Sporopollenins im Verlauf eines Sommers sowohl intensiviert (Abb. 57; Vb1 nach Vb2), als auch vermindert (Abb. 57; VIIIb1 nach VIIIb2) werden, was bereits im Halbjahresdurchschnitt nicht mehr ersichtlich ist (Abb. 57; Vb und VIIIb). Dies läßt vermuten, daß die Vorgänge und Ursachen der chemischen Veränderung des Sporopollenins in ein Rückkopplungssystem eingebunden sind und dadurch innerhalb einer saisonalen Abfolge im Gleichgewicht gehalten werden. Da diese Differenzierung von Jahresgängen im Abstand von 200-300µm bei einer Sedimentmächtigkeit von über 20 m nachweisbar ist, kann eine diagenetische Beeinflussung der Veränderung des Sporopollenins zumindest in diesem Fall nahezu ausgeschlossen werden. Letztendlich bedeutet dies, daß die wesentliche chemische Veränderung des Sporopollenins auf der Sedimentoberfläche und eventuell bereits in der Wassersäule stattfindet und die Variation der Häufigkeitsverteilung der Absorptionsindizes die biologisch-chemische Situation während der Sedimentation der Pollen reflektiert.

7.3. Interpretation der Spektrenvariation von *Pinus*-Pollen

Der Abbau von organischem Material in aquatisch-benthischen Ökosystemen erfolgt enzymatisch durch überwiegend substratspezifische, heterotrophe Mikroorganismen wie Bakterien, Protozoen, mixo- und heterotrophe Mikroalgen und Pilze. Dieser Prozeß kann sowohl unter aeroben als auch unter anaeroben Bedingungen erfolgen. Aerobe und nitratreduzierende Bakterien können auch komplexe organische Substanzen vollständig oxidieren, während unter Sauerstoffausschluß viele natürliche Verbindungen nur noch unvollständig oder nicht abgebaut werden und sich als sogenanntes Kerogen in den Sedimenten anreichern (Schink, 1989). Vor allem der Abbau von komplexen Molekülen und Biopolymeren ist durch die Zusammensetzung der mikrobiellen Populationsstruktur beeinflusst, da die Spaltung der Moleküle je nach chemischer Struktur spezifische Enzyme voraussetzt, die wiederum nur von bestimmten Mikroorganismen synthetisiert werden. So können zum Beispiel bestimmte Substrate nur von Pilzen und nicht von Bakterien genutzt werden, sind aber durch den Aufschluß der Pilze anschließend auch für Bakterien zugänglich (Bremer, 1976; Schaumann, 1993). Der qualitative und quantitative Abbau von organischem Material ist aber nicht nur von der Zusammensetzung der mikrobiellen Population abhängig, sondern auch von zahlreichen weiteren Faktoren wie Temperatur, Sedimentationsgeschwindigkeit, Herkunft und Masse des organischen Materials, Korngröße der Sedimente u.s.w. (Graf, 1987; Hoppe, 1996; Köster, 1993; Meyer-Reil, 1991; 1993; u.a.). Demzufolge ist der Abbau insbesondere von komplexen organischen Molekülen stark von saisonalen und lokalen Variationen in der Zusammensetzung der Mikroorganismen abhängig, die unter entsprechenden Umständen nur zu einem Teilabbau

bzw. dem Abbau bestimmter chemischer Komponenten in den jeweiligen Organismenresten führen, wie bereits bei Kutikulen und Holz gezeigt werden konnte (siehe Kap. 6.4.2. und 6.4.3.).

Entsprechend ist die Kinetik des sukzessiven Abbaus von Sporopollenin zum einen von der taxonspezifischen chemischen Struktur der Pollen abhängig (Havinga, 1984) zum anderen wird sie von der mikrobiellen Populationsstruktur bestimmt, die ihrerseits durch die Konzentration der abbaubaren Nährstoffe, Sedimenteigenschaften, Temperatur- und Salinitätsschwankungen und Durchmischungsprozesse (Bioturbation, Stürme) beeinflusst wird. Die Veränderung der Sporopolleninstruktur der *Pinus*-Pollen reflektiert daher direkt die umweltgesteuerte, mikrobielle Aktivität im Sediment, bei der man davon ausgehen kann, daß sie bei einer konstanten Populationszusammensetzung ebenfalls konstant ist und durch die Mikro-Spektralphotometrie nachgewiesen werden kann. Daß dies tatsächlich der Fall und sogar noch im Fossilen nachweisbar ist, zeigt die annähernd konstante Häufigkeitsverteilung der Absorptionsindizes in den Jahreszyklen des Belauer Sees (Abb. 56) und in der PAS I der Sedimente aus der Kieler Förde (Abb. 55).

Die Variationsbreite der Häufigkeitsverteilung der Absorptionsindizes in den vierteljährlichen Zyklen (Abb. 57) dagegen bestätigt die Abhängigkeit des mikrobiellen Sporopolleninabbaus von den im Jahresverlauf wechselnden Umweltfaktoren. Mehr noch, die auf den ersten Blick widersprüchliche Abfolge des mikrobiellen Abbaus des *Pinus*-Sporopollenins in den Sommerwarven Vb1-2 und VIIIb1-2 (Abb. 57) sind auf unterschiedliche Initialbedingungen und Umwelteinflüsse im Jahrgang zurückzuführen. Diese werden durch Rückkopplungseffekte, welche die Populationsdynamik beeinflussen, ausgeglichen und halten das mikrobielle System im Gleichgewicht. Dies bedeutet aber, daß bimodale Verteilungen der Absorptionsindizes nicht nur auf umgelagertes organisches Material zurückgeführt werden können, sondern daß hierbei ebenso ein ausgeprägter, zyklischer Wechsel im benthischen Ökosystem möglich ist.

Dies gilt ebenso für extreme Veränderungen in der Häufigkeitsverteilung der Absorptionsindizes, vor allem, wenn die untersuchte Probe ein längeres Zeitintervall umfaßt, da hierbei auch eine kontinuierliche, wenn auch rasche, Veränderung des Klimas bzw. der Hydrographie vorliegen kann. Eine Trennung der Ursache für die Schwankungen der Absorptionsindizes ist indes unter der Berücksichtigung von sedimentologischen und paläontologisch-palynologischen Parametern sowie einer hochauflösenden Probennahme möglich. So zeichnen sich klimatische bzw. hydrographische Veränderungen in der Zusammensetzung der terrestrischen (Sporen und Pollen) und der aquatischen (Phyto- und Zooplankton) Mikrofossilien ab, während kurzfristige Ereignisse wie zum Beispiel Stürme durch Veränderungen in den Sedimenten direkt, aber auch durch das gehäufte Vorkommen

von umgelagerten oder aus anderen Biotopen eingeschwemmten, sogenannten "exotischen Mikrofossilien" nachzuweisen sind.

Wie aus den bisherigen Untersuchungen hervorgeht, liegt die besondere Stärke der Mikro-Absorptionsphotometrie einzelner Pollen-Taxa im Nachweis der Stabilität von Ökosystemen und deren Veränderung durch klimatische Wechsel bis hin zur Differenzierung saisonaler Ereignisse. Dies bedeutet, daß anhand der Mikro-Spektralphotometrie in Kombination mit anderen Analyseverfahren auch im Fossilen direkte Zusammenhänge zwischen Organismenpopulationen, der Primärproduktion und dem Abbau des organischen Materials sowie deren Beeinflussung durch Umweltfaktoren erfaßt werden können. Durch derartige Untersuchungen sind in Zukunft nicht nur neue Impulse für die Paläo-Ökosystemforschung zu erwarten, sondern die Ergebnisse dieser Untersuchungen können auch einen erheblichen Beitrag zur Verbesserung der Wirklichkeitsnähe von Klima- und Umweltmodellen leisten.

8. Diskussion und Zukunftsperspektive für die Mikro-Absorptionsphotometrie

Die Mikro-Spektralphotometrie im allgemeinen und vor allem die UV-Vis-Absorptionsphotometrie im speziellen bieten ein bisher noch unausgeschöpftes Reservoir an Analysemöglichkeiten für paläontologisch-biologische und geologisch-umweltorientierte Fragen. Der wesentliche Vorteil dieser Methode gegenüber anderen chemischen Analyseverfahren ist die Möglichkeit, sowohl qualitative als auch quantitative, zerstörungsfreie in situ Analysen selbst im Mikrometerbereich durchführen zu können. Dies eröffnet vor allem für die Untersuchung von fossilen und rezenten komplexen organischen Molekülen und Biopolymeren neue Wege in der Analyse von genetisch-evolutiven Zusammenhängen und in der Interpretation von Umwelteinflüssen auf die Biosphäre. Die gerüstbildenden organischen Substanzen, vor allem von Mikroorganismen und Organen bzw. Organteilen höherer Organismen, die als organisch-wandige Mikrofossilien erhaltungsfähig sind, bieten für derartige Untersuchungen die idealen Voraussetzungen, da sie in den meisten Sedimenten in genügend großer Anzahl vorhanden sind um auch quantitative Analysen durchführen zu können.

Prinzipiell kann die Mikro-Absorptionsphotometrie der organisch-wandigen Mikrofossilien in zwei Arbeitsrichtungen aufgespalten werden:

1. In die Differenzierung der taxonspezifischen chemischen Struktur der gerüstbildenden Biopolymere in Abhängigkeit von der Evolution, und
2. in die Veränderung der taxonspezifischen Biopolymere durch Umwelteinflüsse, Sedimentation bzw. Biostratonomie und Diagenese.

Die Differenzierung der taxonspezifischen chemischen Struktur der gerüstbildenden Biopolymere ist nicht nur zur Unterscheidung der einzelnen Taxa notwendig, sondern läßt auch aufgrund der genetischen Steuerung der Biosynthese dieser Substanzen direkte Rückschlüsse auf evolutive Zusammenhänge der verschiedenen Taxa zu. Da durch vergleichende Untersuchungen an den Biopolymeren umweltbedingte Veränderungen der chemischen Struktur von genetisch-evolutiven unterscheidbar sind, können die Absorptionsspektren der Biopolymere auch als "genetische Proxy-Daten" betrachtet werden.

Wie aus den oben vorgestellten Untersuchungen hervorgeht, können strukturelle Unterschiede auch innerhalb von spezifischen Biopolymeren wie zum Beispiel Cutin oder Sporopollenin mit der Mikro-Absorptionsphotometrie selbst noch im Mikrometerbereich eindeutig erfaßt werden. Anhand der Ähnlichkeit der Biopolymerstruktur bei den einzelnen Taxa sind - vergleichbar mit der Genanalyse aber mit einem unvergleichlich niedrigerem zeitlichen und finanziellen Aufwand - direkt phylogenetische Zusammenhänge zwischen den einzelnen Taxa nachweisbar. Diese Untersuchungen können optimal an Pflanzen durchgeführt werden, da in den verschiedenen Generationen (Sporophyt-Gametophyt) und

in den einzelnen Pflanzenorganen (Blätter-Rinde-Holz) unterschiedliche, mit der Absorptionphotometrie analysierbare Biopolymere vorkommen, die eine äußerst differenzierte Untersuchung der Evolution bzw. der phylogenetischen Verwandtschaft der verschiedenen Taxa erlauben.

Von besonderer Bedeutung ist diese Differenzierungsmöglichkeit auch für die als Acritarchen bezeichneten Dauerstadien von Algen, Proto- und Metazoen (siehe Kap. 6.), die bisher keiner Organismengruppe eindeutig zugeordnet werden können. Allein die Tatsache, daß selbst in rezenten Sedimenten eine größere Anzahl dieser Acritarchen vorkommen, unterstreicht die Notwendigkeit von taxonomisch orientierten mikro-absorptionsphotometrischen Untersuchungen der organisch-wandigen Organismenreste. Bereits aus diesen Gründen ist es denkbar, daß sich die Mikro-Spektralphotometrie schon in naher Zukunft zu einem unverzichtbaren Standardverfahren bei der Erfassung und Untersuchung der (Paläo-)Biodiversität und zur Differenzierung neuer Taxa entwickelt.

Die Untersuchung der umweltbedingten Veränderung taxonspezifischer Biopolymere bietet sowohl für aktuelle als auch für paläontologische Fragestellungen eine Reihe von Lösungsmöglichkeiten, die aufgrund der benötigten Probengröße oder aus Kosten-/Zeitgründen bei umfangreichen Reihenuntersuchungen mit bisherigen Analyseverfahren oft nicht realisierbar sind. Denkbar sind hierzu zum Beispiel umfangreiche "Monitoring-Programme" zur Untersuchung von standort- bzw. klimaspezifischen Einflüssen auf die Biopolymerstruktur bis hin zu Veränderungen durch Emmisionsschädigungen, erhöhte UV-Strahlung oder durch gentechnische Eingriffe. Die Auslotung aller Möglichkeiten der Mikro-Absorptionsspektroskopie würde jedoch jeglichen Rahmen der vorliegenden Arbeit sprengen, weshalb die Untersuchungen primär auf rein paläontologische Fragestellungen fokussiert sind.

Der primäre Punkt bei der Untersuchung der Veränderung von Biopolymeren bei der Sedimentation ist die Klärung der dabei stattfindenden biologisch-chemischen Vorgänge und deren Beeinflussung durch die Umweltparameter. Anhand von Laborversuchen, die bisher überwiegend an *Pinus*-Pollen durchgeführt wurden, konnte die Abbaubarkeit des Sporopollenins durch nichtbiogene chemische Vorgänge (z.B. Hydrolyse durch anorganische Säuren und Laugen oder Oxidation mittels Peroxyd) überprüft werden. Hierbei zeigte sich, daß das Sporopollenin auch bei einem chemischen Streß, der in seiner Intensität weit über die natürlichen Bedingungen hinausgeht, stabil bleibt (siehe Kap. 5.2.). Demgegenüber stehen die bereits in Oberflächenproben nachweisbaren Strukturveränderungen des Sporopollenins unter natürlichen Bedingungen, welche nur durch den partiellen enzymatischen Abbau des Sporopollenins mittels mikrobieller Aktivität erklärt werden kann. Besonders bemerkenswert sind in diesem Zusammenhang die Resultate der Warvenanalyse (siehe Kap. 7.2.), anhand deren nachweisbar ist, daß dieses primäre

mikrobielle Signal selbst bei größerer Sedimentüberdeckung auch noch im Mikrometerbereich differenziert erhalten bleibt. Dies bestätigt ebenfalls die Annahme, daß die durch die Mikro-Absorptionsphotometrie nachweisbaren Veränderungen der Sporopolleninstruktur, zumindest in diagenetisch nicht oder nur wenig beanspruchten Sedimenten nahezu ausschließlich auf mikrobielle Aktivitäten zurückzuführen ist. Für die Analyse der Absorptionsspektren der Pollen bedeutet das konkret, daß die Variation der Absorptionsspektren eines Pollen-Taxons die mikrobielle Situation während der Sedimentation widerspiegelt, die wiederum von Umweltfaktoren wie Temperatur, Salinität, Art und Quantität des angelieferten organischen Materials etc. abhängig ist. Demzufolge ist die Mikro-Absorptionsphotometrie organisch-wandiger Mikrofossilien vor allem ein Werkzeug, mit dem Umweltveränderungen bis in den saisonalen Bereich nachgewiesen werden können, was die Erschließung völlig neuer Dimensionen in der Analyse von Paläo-Ökosystemen und der Ursache für deren Genese bzw. Veränderung ermöglicht.

Dank

Mein besonderer Dank geht an Herrn Prof. Dr. J. Thiede, der die Einwerbung eines Mikrospektralphotometers über einen HBFG-Antrag und die Durchführung der Untersuchungen am GEOMAR ermöglichte. Für die Überlassung der Proben aus dem Belauer See und die Diskussion der Ergebnisse möchte ich Herrn Priv. Doz. Dr. H. Usinger, für die Überlassung rezenter Pollen und hilfreiche biochemische Hinweise Herrn Prof. Dr. R. Wiermann und Herrn C. Schwerdtfeger danken. Für die Durchführung der FTIR-Analysen am Forschungszentrum Jülich danke ich Herrn Dr. R. Littke. Für wertvolle Hinweise zur Spektralphotometrie und die Durchsicht des Manuskriptes möchte ich Herrn Prof. Dr. J. Bauch meinen Dank aussprechen. Für die Durchsicht des Manuskripts danke ich außerdem auch Frau Dr. N. Biebow, Frau O. Runze, Frau A. Walhorn und Herrn G. Haass.

Die Durchführung der Untersuchungen und Versuche für die vorliegende Arbeit erfolgte ohne weitere finanzielle Unterstützung, sowie ohne Hilfe durch technisches Personal oder studentische Hilfskräfte.

9. Literatur

- Achari, R.G., Shaw, G. & Holleyhead, R., 1973: Identification of ionene and other carotenoid degradation products from the pyrolysis of sporopollenins derived from some pollen exine, a spore coal and Green River shale.- *Chem. Geol.*, **12**: 229-234.
- Aken, M.E. & Pienaar, R.N., 1985: Preliminary investigations on the chemical composition of the scale-boundary and cyst wall of *Pyramimonas pseudoparkeae* (Prasinophyceae).- *South African J. Bot.*, **51**: 408-416.
- Atkinson, A.W., Gunning, B.E.S. Jr. & John, P.C.L., 1972: Sporopollenin in the cell wall of *Chlorella* and other algae: Ultrastructure, chemistry, and incorporation of ^{14}C -acetate, studies in synchronous cultures.- *Planta*, **107**: 1-32.
- Atzler, R., 1995: Der pleistozäne Untergrund der Kieler Bucht und angrenzender Gebiete nach reflexionsseismischen Messungen.- *Repts. Geol. Paläont. Inst. Univ. Kiel*, **70**: 1-116.
- Baker, E.A., 1982: Chemistry and morphology of plant epicuticular waxes.- In: Cutler, D.F., Alvin, K.L. & Price, C.E., (eds.): *The Plant Cuticle*.- Academic Press, London: 139-165.
- Bartnicki-Garcia, S., 1970: Cell wall composition and other biochemical markers in fungal phylogeny.- In: Harborne, J.B., (ed.): *Phytochemical Phylogeny; Proceedings of the Phytochemical Society Symposium*, Bristol; April 1969; Academic Press, London: 81-103.
- Bates, A.L. & Hatcher, P.G., 1989: Solid-state ^{13}C NMR studies of a large fossil gymnosperm from the Yallourn Open Cut, Latrobe Valley, Australia.- *Org. Geochem.*, **14**: 609-617.
- Bates, A.L. & Hatcher, P.G., 1992: Quantitative solid-state ^{13}C nuclear magnetic resonance spectrometry of wood xylem: effect of increasing carbohydrate content.- *Org. Geochem.*, **18**: 407-416.
- Batten, D.J. & Grenfell, H.R., 1996: *Botryococcus*.- In: Jansonius, J. & McGregor, D.C., (eds.): *Palynology: Principles and Applications*.- AASP Foundation, **1**: 205-214.
- Batten, D.J. & Lister, J.K., 1988: Evidence of freshwater dinoflagellates and other algae in the English Wealden (Early Cretaceous).- *Cret. Res.*, **9**: 171-179.
- Batten, D.J. & Van Geel, B., 1985: *Celyphus rallus*, probable Early Cretaceous rivulariacean blue-green alga.- *Rev. Palaeobot. Palynol.*, **44**: 233-241.
- Batten, D.J., 1996: Colonial Chlorococcales.- In: Jansonius, J. & McGregor, D.C., (eds.): *Palynology: Principles and Applications*.- AASP Foundation, **1**: 191-203.
- Bauch, J. & Berndt, H., 1973: Variability of the chemical composition of pit membranes in bordered pits of gymnosperms.- *Wood Sci. Technol.*, **7**: 6-19.
- Bauch, J. Schweers, W. & Berndt, H., 1974: Lignification during heartwood formation: Comparative study of rays and bordered pit membranes in coniferous wood.- *Holzforschung*, **28**: 86-91.
- Behar, F., Derenne, S. & Largeau, C., 1995: Closed pyrolyses of the isoprenoid algaenan of *Botryococcus braunii*, L race: Geochemical implication for derived kerogens.- *Geochim. Cosmochim. Acta*, **59**: 2983-2997.
- Belcher, J.H., 1968: Notes on physiology of *Botryococcus braunii* Kützing.- *Archiv Mikrobiol.*, **61**: 335-346.
- Benade, W., 1954: *Mikrobiologie der Moore*.- Länderverlag, Linz, Wien u. Frankfurt/M.; pp. 128.
- Berkaloff, C., Casadevall, E., Largeau, C., Metzger, P., Peracca, S. & Virlet, J., 1983: The resistant polymer of the walls of the hydrocarbon-rich alga *Botryococcus braunii*.- *Phytochem.*, **22**: 389-397.
- Berzelius, J.J., 1837: *Lehrbuch der Chemie* 3. Aufl., Bd. 6, Arnoldsche Buchhandlung, Dresden und Leipzig: pp. 658.
- Bestougeff, M.A., Byramjee, R.J. & Pesneau, B., 1985: On the chemical mechanism of kerogen thermal transformation. Study of the transformation of sporopollenin.- *Org. Geochem.*, **8**: 389-398.
- Beyer, H. & Walter, W., 1991: *Lehrbuch der organischen Chemie*.- 22. Aufl., Hirzel Verlag, Stuttgart; pp. 1030.

- Bianchi, G., 1987: Chemical genetics of plant surface lipid biosynthesis.- *Gaz. Chim. Italiana*, **117**: 707-716.
- Biebow, N., 1996: Dinoflagellatenzysten als Indikatoren der spät- und postglazialen Entwicklung des Auftriebsgeschehens vor Peru.- *GEOMAR Rept.*, **57**: 1-100.
- Blackwell, J., 1969: Structure of β -chitin or parallel chain systems of poly- β -(1 \rightarrow 4)-N-acetyl-D-glucosamine.- *Biopolymers*, **7**: 281-298.
- Botha, C.E.J., Evert, R.F., Cross, R.H.M. & Marshall, D.M., 1982: The suberin Lamella, a possible barrier to water movement from the veins to the mesophyll of *Themeda triandra* Forsk.- *Protoplasma*, **112**: 1-8.
- Bowell, G.P., 1988: Synthesis of cell wall components: Aspects of control.- *Phytochem.*, **27**: 1235-1253.
- Braggio Morucchio, G., 1987: On the autofluorescence of some vascular plants pollen and spores.- *Pollen et Spores*, **29**: 229-238.
- Brassell, S.C., 1993: Applications of biomarkers for delineating marine paleoclimatic fluctuations during the Pleistocene.- In: Engel, M.H. & Macko, S.A., (eds.): *Organic Geochemistry*.- Plenum Press, New York: 699-738.
- Brown, A.C., Knights, B.A. & Conway, E., 1969: Hydrocarbon content and its relationship to physiological state in the green alga *Botryococcus braunii*.- *Phytochem.*, **8**: 543-547.
- Brehm, V., Krasske, G. & Krieger, W., 1948: Subfossile tierische Reste und Algen im Schwarzsee bei Kitzbühl.- *Öst. bot. Z.*, **95**: 74-83.
- Bremer, G.B., 1976: The ecology of marine lower fungi.- In: Jones, E.B.G., (ed.): *Recent Advances in Aquatic Mycology*.- Elek Science, London: 313-333.
- Brenner, W., 1988: Dinoflagellaten aus dem Unteren Malm (Oberer Jura) von Süddeutschland; Morphologie, Ökologie, Stratigraphie.- *Tübinger Mikropal. Mitt.*, **6**: 1-115.
- Brenner, W., 1992: First results of Late Triassic palynology of the Wombat Plateau, Northwestern Australia.- *Proc. ODP, Sci. Results*, **122**: 413-425.
- Brenner, W., 1996: Mikro-Absorptionsphotometrie: neue Möglichkeiten der Faziesanalyse mit fossilen und rezenten Pollen.- *N. Jb. Geol. Paläont. Mh.*, **1996**(5): 257-278.
- Brenner, W. & Foster, C.B., 1994: Chlorophycean algae from the Triassic of Australia.- *Rev. Palaeobot. Palynol.*, **80**: 209-234.
- Brooks, J. & Shaw, G., 1968a: Chemical structure of the exine of pollen walls and a new function for carotenoids in nature.- *Nature*, **219**: 532-533.
- Brooks, J. & Shaw, G., 1968b: The post-tetrad ontogeny of the pollen wall and the chemical structure of the sporopollenin of *Lilium henryi*.- *Grana*, **8**: 227-234.
- Brooks, J. & Shaw, G., 1972: Geochemistry of sporopollenin.- *Chem. Geol.*, **10**: 69-87.
- Brooks, J., 1971: Some chemical and geochemical studies on sporopollenin.- In: Brooks, Grant, P., Mait, M.D., Shaw, G. & Van Gijzel, P., (eds.): *Sporopollenin*.- Academic Press, London: 351-407.
- Brown, A.C., Knights, B.A. & Conway, E., 1969: Hydrocarbon content and its relationship to physiological state in the green alga *Botryococcus braunii*.- *Phytochemistry*, **8**: 543-547.
- Brown, C.A., 1960: Palynological techniques.- C.A. Brown (priv. publ.), Baton Rouge: pp. 188.
- Brunner, U. & Honegger, R., 1985: Chemical and ultrastructural studies on the distribution of sporopollenin like biopolymers in six genera of lichen phycobionts.- *Canad. J. Bot.*, **63**: 2221-2230.
- Burczyk, J. & Hesse, M., 1981: The ultrastructure of the outer cell wall-layer of *Chlorella* mutants with and without sporopollenin.- *Plant Syst. Evol.*, **138**: 121-137.
- Burgess, J.D., 1974: Microscopic examination of Kerogen (dispersed organic matter) in petroleum exploration.- *Geol. Soc. America, Spec. Paper*, **153**: 19-30.
- Caldicott, A.B. & Eglinton, G., 1976: Cutin acids from bryophytes: An ω -1 hydroxy alkanolic acid in two liverwort species.- *Phytochem.*, **15**: 1139-1143.

- Casagrande, D.J. & Park, K., 1978: Muramic acid levels in Okefenokee peat: The role of microorganisms in the peat-forming system.- *Soil Sci.*, **125**: 181-183.
- Chalansonnet, S., Largeau, C., Casadevall, E., Berkloff, C., Peniguel, G. & Couderc, R., 1987: Cyanobacterial resistant biopolymers. Geochemical implications of the properties of *Schizothrix* sp. resistant material.- *Org. Geochem.*, **13**: 1003-1010.
- Charman, D.J., 1992: The effects of acetylation on fossil *Pinus* pollen and *Sphagnum* spores discovered during routine pollen analysis.- *Rev. Palaeobot. Palynol.*, **72**: 159-164.
- Chen, C.-L. & Chang, H.-M., 1985: Chemistry of lignin biodegradation.- In: Higuschi, T., (ed.): *Biosynthesis and Biodegradation of Wood Components*.- Academic Press, London: 535-556.
- Chennaux, G., 1968: Présence de tintinnoidiens dans l'Ordovicien du Sahara.- *Acad. Sci. Paris, C.R.*, **266**, D: 86-87.
- Chu, H., Tseng, C. & Zhang, Z., 1978: Fossil *Pediastrum* algae from the Danian Formation (Lower Tertiary) of northern Jiangsu, with note on their sedimentary conditions.- *Acta Palaeont. Sin.*, **17**: 233-243.
- Collins, M.J., Muyzer, G., Westbroek, P., Curry, G.B., Sandberg, P.A., Xu, S.J., Quinn, R. & MacKinnon, D., 1991: Preservation of fossil biopolymeric structures: Conclusive immunological evidence.- *Geochim. Cosmochim. Acta*, **55**: 2253-2257.
- Collinson, M.E., 1986: Use of modern generic names for plant fossils.- In: Spicer, R.A. & Thomas, B.A., (eds.): *Systematic and Taxonomic Approaches in Palaeobotany*.- *System. Ass., Spec. Vol.*, **31**: 91-103.
- Colom, G., 1948: Fossil tintinnids: Loricated infusoria of the order of the oligotricha.- *J. Paleont.*, **22**(2): 233-263.
- Corradini, D., Russo, F. & Serpagli, E., 1974: Ultrastructure of some fossil and recent polychaete jaws (scolecodonts).- *Boll. Soc. Paleont. Italiana*, **13**(1-2): 122-134.
- Cottle, W. & Kolattukudy, P.E., 1982: Biosynthesis, deposition, and partial characterization of potato suberin phenolics.- *Plant Physiol.*, **69**: 393-399.
- Cronberg, G., 1986: Blue-green algae, green algae and chrysophyceae in sediments.- In: Berglund, B.E., (ed.): *Handbook of Holocene Palaeoecology and Palaeohydrology*.- Wiley, Chichester: 507-526.
- Czapek, Fr., 1925: *Biochemie der Pflanzen*.- 3. Aufl.; Gustav-Fischer Verlag, Jena: pp. 702.
- Czygan, F.-C., 1968: Sekundär-Carotinoide in Grünalgen.- *Arch. Mikrobiol.*, **61**: 81-102.
- Dale, B., 1976: Cyst formation, sedimentation, and preservation: factors affecting dinoflagellate assemblages in recent sediments from Trondheimsfjord, Norway.- *Rev. Palaeobot. Palynol.*, **22**: 39-60.
- Dale, B., 1983: Dinoflagellate resting cysts: "benthic plankton".- In: Fryxell, G.A., (ed.): *Survival Strategies of the Algae*.- Cambridge Univ. Press, Cambridge: 69-136.
- Dale, B., 1996: Dinoflagellate cyst ecology: modeling and geological applications.- In: Jansonius, J. & McGregor, D.C., (eds.): *Palynology: Principles and Applications*.- AASP Foundation, **3**: 1249-1275.
- De Leeuw, J.W. & Largeau, C., 1993: A review of macromolecular organic compounds that comprise living organisms and their role in kerogen, coal, and petroleum formation. In: Engel, M.H. & Macko, S.A., (eds.): *Organic Geochemistry Principles and Applications*.- Plenum Press, New York: 23-71.
- De Vries, P.J.R., Simons, J. & van Beem, A.P., 1983: Sporopollenin in the spore wall of *Spirogyra* (Zygnemataceae, Chlorophyceae).- *Acta Bot. Neerl.*, **32**(1/2): 25-28.
- Deak, M.H., 1964: Les Scytinascias.- *Bull. Soc. Géol. Hongrie*, **94**: 95-106.
- Deason, T.R., Czygan, F.-C. & Soeder, C.J., 1977: Taxonomic significance of secondary carotenoid formation in *Neosporangium* (Chlorococcales, Chlorophyta).- *J. Phycol.*, **13**: 176-180.

- Deevey, E.S., Jr., 1942: Studies on Connecticut lake sediments. III. The biostratonomy of Linsley Pond.- Amer. J. Sci., **240**: 233-264.
- Delwiche, C.F., Graham, L.E. & Thomson, N., 1989: Lignin-like compounds and sporopollenin in *Coleochaete*, an algal model for land plant ancestry.- Science, **245**: 399-401.
- Derenne, S., Largeau, C. & Hatcher, P.G., 1992: Structure of *Chlorella fusca* algaenan: relationships with ultralaminae in lacustrine kerogens; species- and environment-dependent variation in the composition of fossil ultralaminae.- Org. Geochem., **18**: 417-422.
- Derenne, S., Largeau, C., & Behar, F., 1994: Low polarity pyrolysis products of Permian to Recent *Botryococcus*-rich sediments: First evidence for the contribution of an isoprenoid algaenan to kerogen formation.- Geochim. Cosmochim. Acta, **58**: 3703-3711.
- Derenne, S., Largeau, C., & Casadevall, E., 1991: Occurrence of tightly bound isoprenoid acids in an algal, resistant biomacromolecule: possible geochemical implications.- Org. Geochem., **17**: 597-602.
- Derenne, S., Largeau, C., & Taulelle, F., 1993: Occurrence of non-hydrolysable amides in the macromolecular constituent of *Scenedesmus quadricauda* cell wall as revealed by ¹⁵N NMR: Origin of n-alkylnitriles in pyrolysates of ultralaminae-containing kerogens.- Geochim. Cosmochim. Acta, **57**: 851-857.
- Derenne, S., Largeau, C., Casadevall, E. & Connan, J., 1988: Mechanism of formation and chemical structure of Coorongite - II. Structure and origin of the labile fraction. Fate of botryococcenes during early diagenesis.- Advances in Organic Geochemistry 1987; Org. Geochem., **13**: 965-971.
- Derenne, S., Metzger, P., Largeau, C., Van Bergen, P.F., Gatellier, J.P., Sinninghe Damsté, J.S., de Leeuw, J.W. & Berkalo, C., 1992: Similar morphological and chemical variations of *Gleocapsomorpha prisca* in Ordovician sediments and cultured *Botryococcus braunii* as a response to changes in salinity.- Org. Geochem., **19**: 299-313.
- Douglas, A.G., Sinninghe Damsté, J.S., Fowler, M.G., Eglinton, T.I. & de Leeuw, J.W., 1991: Unique distributions of hydrocarbons and sulphur compounds released by flash pyrolysis from the fossilised alga *Gleocapsomorpha prisca*, a major constituent in one of four Ordovician kerogenes.- Geochim. Cosmochim. Acta, **55**: 275-291.
- Downie, C., 1959: Hystrichospheres from Silurian Wenlock Shale of England.- Palaeontology, **2**: 56-71.
- Duphorn, K., 1979: The Federal Republic of Germany.- In: Gudelis, V. & Königssohn, L.-K., (eds.): The Quaternary History of the Baltic.- Acta Univ. Uppsala Annum Quingentesimum Celebrantis **1**: 195-206.
- Durand, B., 1980: Sedimentary organic matter and kerogen. Definition and quantitative importance of kerogen.- In: Durand, B., (ed.): Insoluble Organic Matter From Sedimentary Rocks.- Editions Technip, Paris: 13-34.
- Dürr, G., 1979: Elektronenmikroskopische Untersuchungen am Panzer von Dinoflagellaten. III. Die Zyste von *Peridinium cinctum*.- Arch. Protistenk., **122**: 121-139.
- Ebert, G., 1993: Biopolymere: Struktur und Eigenschaften.- Teubner, Stuttgart: pp. 543.
- Ehrenberg, C.G., 1838: Über das Massenverhältnis der jetzt lebenden Kieselinfusorien und über ein neues Infusorien-Konglomerat als Polierschiefer in Jastraba in Ungarn.- K. Akad. Wiss. Berlin, Abh., **3**(1836): 109-136.
- Eisenack, A., 1935: Mikrofossilien aus Doggergeschieben Ostpreußens.- Z. Geschiebeforsch., **11**: 167-184.
- Eisenack, A., 1963: Hystrichosphären.- Biol. Rev., **38**: 107-139.
- Eisenack, A., 1966: Über einige Probleme bei fossilen Dinoflagellaten.- Arch. Protistenk., **109**: 207-222.
- Elias, H.G., 1971: Makromoleküle.- Verlag Huthing, Basel: pp. 798.
- Elsik, W.C., 1966: Biologic degradation of fossil pollen grains and spores.- Micropaleont., **12**: 515-518.
- Elsik, W.C., 1996: Fungi.- In: Jansonius, J. & McGregor, D.C., (eds.): Palynology: Principles and Applications.- AASP Foundation, **1**: 293-305.

- Emeis, K.C., Bull, D. & Dooze, H., 1992: Alkenone sea-surface temperatures and productivity at ODP Site 846 (eastern equatorial Pacific) in the Late Quaternary.- Fourth Intern. Conference on Pale-oceanography, Kiel, Abs.: 105.
- Erdtman, G., 1934: Über die Verwendung von Essigsäureanhydrid bei Pollenuntersuchungen.- Svensk. Bot. Tidsk., **28**(2): 354-358.
- Erdtmann, G., 1960: The acetolysis method: a revised description.- Svensk Bot. Tidskr., **54**: 561-564.
- Erdtman, G., 1969: Handbook of Palynology.- Munksgaard, Kopenhagen: pp. 486.
- Espelie, K.E., Davis, R.W. & Kolattukudy, P.E., 1980: Composition, ultrastructure and function of the cutin- and suberin-containing layers in the leaf, fruit peel, juice-sac and inner seed coat of grapefruit (*Citrus paradisi* Macfed.).- Planta, **149**: 498-511.
- Euteneuer-Macher, T., 1990: Morphologie und Chemie der Epikutikularwachse von *Picea abies* (L.) Karsten unter dem Einfluß von Klima und Immissionen.- Dissertationes Botanicae, **150**; Cramer, Berlin: pp. 156.
- Evitt, W.R., 1963: Occurrence of freshwater alga *Pediastrum* in Cretaceous marine sediments.- Amer. J. Sci., **261**: 890-893.
- Evitt, W.R., 1985: Sporopollenin Dinoflagellate Cysts: their Morphology and Interpretation.- AASP Foundation, Dallas: pp. 333
- Faulon, J.-L., Carlson, G.A. & Hatcher, P.G., 1994: A three-dimensional model for lignocellulose from gymnospermous wood.- Org. Geochem., **21**: 1169-1179.
- Felix, C.J., 1963: Mechanical sample disaggregation in palynology.- Micropaleont., **9**: 337-339.
- Fensome, R.A., Riding, J.B. & Taylor, F.J.R., 1996: Dinoflagellates.- In: Jansonius, J. & McGregor, D.C., (eds.): Palynology: Principles and Applications.- AASP Foundation, **1**: 107-169.
- Florkin, M., 1969: Fossil shell "conchiolin" and other preserved biopolymers.- In: Eglinton, G. & Murphy, M.T.J., (eds.): Organic Geochemistry, Band 2-Geochemistry.- Springer Verlag, New York: 498-520.
- Folland, C.K., Karl, T.R. & Vinnikov, K.Y.A., 1990: Observed climate variations and changes.- In: Houghton, J.T., Jenkins, G.J. & Ephraums, J.J., (eds.): Climate Change.- The IPCC Scientific Assessment; Cambridge Univ. Press, New York: 195-238.
- Foster, C.B., Reed, J.D. & Wicander, R., 1989: *Gloeocapsomorpha prisca* Zalessky, 1917: A new study Part I: taxonomy, geochemistry, and paleoecology.- Geobios, **22**: 735-759.
- Fowler, M.G., 1992: The influence of *Gloeocapsomorpha prisca* on the organic geochemistry of oils and organic-rich rocks of Late Ordovician age from Canada.- In: Schidlowski, M., Golubic, S.; Kimberley, M.M., McKirdy, D.M. & Trudinger, P.A., (eds.): Early Organic Evolution: Implications for Mineral and Energy Resources.- Springer-Verlag, Berlin: 336-356.
- Frederiksen, N.O., 1978: Preservation of cycad and *Ginkgo* pollen.- Rev. Palaeobot. Palynol., **25**: 163-179.
- French, C.S., Brown, J.S. & Lawrence, M.C., 1972: Four universal forms of chlorophyll a.- Plant Physiol., **49**: 421-429.
- Frey, D.G., 1964: Remains of animals in Quaternary lake and bog sediments and their interpretation.- Arch. Hydrobiol. Beih., **2**: 1-114.
- Frey, D.G., 1986: Cladocera analysis.- In: Bergelund, B.E., (ed.): Handbook of Holocene Palaeoecology and Palaeohydrology.- John Wiley & Sons Ltd., New York: 667-692.
- Frey-Wyssling, A. & Mühlethaler, K., 1965: Ultrastructural Plant Cytology.- Elsevier, Amsterdam: pp. 377.
- Furch, B. & Goodax, G.W., 1978: Sporopollenin in *Phycomyces blakesleeana*.- Trans. Br. mycol. Soc., **70**(2): 307-309.
- Gams, H., 1927: Die Geschichte der Lunzer Seen, Moore und Wälder.- Int. Rev. Hydrobiol., **18**: 305-387.

- Gatellier, J.-P.L.A., de Leeuw, J.W., Sinninghe Damsté, J.S., Derenne, S., Largeau, C. & Metzger, P., 1993: A comparative study of macromolecular substances of a Coorongite and cell walls of the extant alga *Botryococcus braunii*.- *Geochim. Cosmochim. Acta*, **57**: 2053-2068.
- Geisert, M., Rose, T., Bauer, W. & Zahn, R.K., 1987: Occurrence of carotenoids and sporopollenin in *Nano-chlorum eucaryotum*, a novel marine alga with unusual characteristics.- *BioSystems*, **20**: 133-142.
- Glikson, M., Lindsay, K. & Saxby J., 1989: *Botryococcus* - A planktonic green algae, the source of petroleum through the ages: Transmission electron microscopical studies of oil shales and petroleum source rocks.- *Org. Geochem.*, **14**: 595-608.
- Goñi, M.A., Nelson, B., Blanchette, R.A. & Hedges, J.I., 1993: Fungal degradation of wood lignins: Geochemical perspectives from CuO-derived phenolic dimers and monomers.- *Geochim. Cosmochim. Acta*, **57**: 3985-4002.
- Good, B.H. & Chapman, R.L., 1978: The ultrastructure of *Phycopeltis* (Chroolepidaceae: Chlorophyta). 1. Sporopollenin in the cell walls.- *Amer. J. Bot.*, **65**(1): 27-33.
- Gooday, G.W., Fawcett, P., Green, D. & Shaw, G., 1973: The formation of fungal sporopollenin in the zygosporangium wall of *Mucor mucedo*: a role for the sexual carotenogenesis in the Mucorales.- *J. Gen. Microbiol.*, **74**: 233-239.
- Gooday, G.W., Green, D., Fawcett, P. & Shaw, G., 1974: Sporopollenin formation in the ascospore wall of *Neurospora crassa*.- *Arch. Microbiol.*, **101**: 145-151.
- Goossens, H., Rijpstra, W.I.C., Düren, R.R., de Leeuw, J.W. & Schenck, P.A., 1986: Bacterial contribution to sedimentary organic matter; a comparative study of lipid moieties in bacteria and Recent sediments.- *Org. Geochem.*, **10**: 683-696.
- Goth, K., de Leeuw, J.W., Püttmann, W. & Tegelaar, E.W., 1988: Origin of Messel Oil Shale kerogen.- *Nature*, **336**: 759-761.
- Graf, G., 1987: Benthic energy flow during a simulated autumn bloom sedimentation.- *Mar. Ecol. Prog. Ser.*, **39**: 23-29.
- Gray, J. & Boucot, A.J., 1975: Color changes in pollen and spores: a review.- *Geol. Soc. America Bull.*, **86**: 1019-1033.
- Gray, J., 1965a: Palynological techniques.- In: Kummel, B. & Raup, D., (eds.): *Handbook of Paleontological Techniques*.- Freeman & Co., San Francisco: 471-481.
- Gray, J., 1965b: Techniques in palynology: extraction techniques.- In: Kummel, B. & Raup, D., (eds.): *Handbook of Paleontological Techniques*.- Freeman & Co, San Francisco: 530-587.
- Gripp, K. & Beyle, M., 1937: Das Interglazial von Billstedt (Öjendorf).- *Mitt. Min.-Geol. Inst. Hamburg*, **16**: 19-36.
- Gripiolo, R. & Bonfante-Fasolo, P., 1984: Sporopollenin and melanin-like pigments in the wall of a *Glomus* spore.- *Gazz. Bot. Ital.*, **118**: 88-90.
- Gruner, H.-E., 1993: Crustacea. In: Kaestner (Begr.): *Lehrbuch der Speziellen Zoologie*, Band 1, Teil 4; 5. Aufl., Gustav Fischer Verlag, Jena: 448-1030.
- Gubatz, S. & Wiermann, R., 1992: Studies on sporopollenin biosynthesis in *Tulipa* anthers III. Incorporation of specifically labeled ^{14}C -phenylalanine in comparison to other precursors.- *Bot. Acta*, **105**: 407-413.
- Gubatz, S. & Wiermann, R., 1993: Studies on sporopollenin biosynthesis in *Curcubita maxima* I: The substantial labeling of sporopollenin from *Curcubita maxima* after application of [^{14}C]phenylalanine.- *Z. Naturforsch.*, **48**: 10-15.
- Guilford, W.J., Schneider, D.M., Labovitz, J. & Opella S.J., 1988: High resolution solid state ^{13}C NMR spectroscopy of sporopollenin from different plant taxa.- *Plant Physiol.*, **86**: 134-136.
- Guy-Ohlson, D., 1992: *Botryococcus* as an aid in the interpretation of palaeoenvironment and depositional processes.- *Rev. Palaeobot. Palynol.*, **71**: 1-15.

- Hallam, N.D., 1982: Fine structure of the leaf cuticle and the origin of leaf waxes.- In: Cutler, D.F., Alvin, K.L. & Price, C.E., (eds.): The Plant Cuticle.- Academic Press, New York: 197-214.
- Harland, R., 1981: Cysts of the colonial dinoflagellate *Polykrikos schwartzii* Bütschli 1873, (Gymnodiniales), from recent sediments, Firth of Forth, Scotland.- *Palynology*, 5: 65-79.
- Hartmann-Schröder, G., 1993: Stamm Annelida.- In: Kaestner, A., (Begr.): Lehrbuch der Speziellen Zoologie - Wirbellose Tiere.- Bd. 1, Teil 3; 5. Aufl., Gustav Fischer Verlag, Jena: pp. 608.
- Hartz, N., 1909: Bidrag til Danmarks tertiære og diluviale Flora.- *Danm. geol. Undersøg.*, 20: 255-292.
- Hatcher, P.G., Lerch III, H.E., Bates, A.L. & Verheyen, T.V., 1989: Solid-state ^{13}C nuclear magnetic resonance studies of colified gymnosperm xylem tissue from Australian brown coals.- *Org. Geochem.*, 14: 145-155.
- Havinga, A.J., 1967: Palynology and pollen preservation.- *Rev. Palaeobot. Palynol.*, 2: 81-98.
- Havinga, A.J., 1984: A 20-year experimental investigation into the differential corrosion susceptibility of pollen and spores in various soil types.- *Pollen et Spores*, 26: 541-557.
- Head, M.J., 1992: Zygosporangia of the of the Zygnemataceae (Division Chlorophyta) and other freshwater algal spores from the uppermost Pliocene St. Erth Beds of Cornwall, southwestern England.- *Micropaleont.*, 38: 237-260.
- Hensen, V., 1887: Ueber die Bestimmung des Plankton's oder des im Meere treibenden Materials an Pflanzen und Thieren; nebst Anhang.- *Ber. Kommis. wiss. Unters. deutschen Meere*, 5: 1-108.
- Herdman, M., 1987: Akinetes: structure and function.- In: Fay, P. & Van Baalen, C., (eds.): The Cyanobacteria.- Elsevier, Amsterdam: 227-250.
- Hermans, P.H., 1949: The Physics and Chemistry of Cellulose Fibers.- Elsevier, Amsterdam. pp. 516.
- Herngreen, G.F.W., 1983: Palynological preparation techniques.- In: Costa, L.I., (ed.): Palynology-Micropaleontology: Laboratories, Equipment and Methods.- *NPD, Bull.*, 2: 13-34.
- Heslop-Harrison, J., 1968: Wall development within the microspore tetrad of *Lilium longiflorum*.- *Can. J. Bot.*, 46: 1185-1192.
- Hesmer, H., 1929: Mikrofossilien in Torfen.- *Paläont. Z.*, 11: 245-257.
- Hess, W.M., Weber, D.J., Allen, J.V. & Laseter, J.L., 1973: Ultrastructural changes caused by lipid extraction of pollen of *Pinus echinata*.- *Can. J. Bot.*, 51: 1685-1688.
- Hesse, M., Meier, H. & Zeeh, B., 1991: Spektroskopische Methoden in der organischen Chemie.- Georg Thieme Verlag, Stuttgart: pp. 336.
- Heunisch, C. & Muntzos, T., 1990: Two new automatic sieving techniques for the enrichment of palynomorphs.- *Rev. Palaeobot. Palynol.*, 66: 159-162.
- Higuchi, T., 1985: Biosynthesis of Lignin.- In: Higuchi, T., (ed.): Biosynthesis and biodegradation of wood components.- Academic Press, London: 141-160.
- Hindák, F., 1977: Studies on the chlorococcal algae (Chlorophyceae). II.- *Biol. Práce*, 26(6): 1-195.
- Hoffmann, C.F., Foster, C.B., Powell, T.G. & Summons, R.E., 1987: Hydrocarbon biomarkers from Ordovician sediments and the fossil alga *Gleocapsomorpha prisca* Zalesky 1917.- *Geochim. Cosmochim. Acta*, 51: 2681-2697.
- Hofmann, H.J., 1976: Precambrian microflora, Belcher Islands, Canada: significance and systematics.- *J. Paleontol.*, 50: 1040-1073.
- Hofmann, W., 1988: The significance of chironomid analysis (Insecta: Diptera) for paleolimnological research.- *Palaeogeogr., Palaeoclim., Palaeoecol.*, 62: 501-509.
- Hofmann, W., 1993: Late-Glacial/Holocene changes of the climatic and trophic conditions in three maar lakes, as indicated by faunal remains. II. Chironomidae (Diptera).- In: Negendank, J.F.W. & Zolitschka, B., (eds.): Paleolimnology of European Maar Lakes.- Springer Verlag, Berlin: 421-433.

- Hollerbach, A., 1985: Grundlagen der organischen Geochemie.- Springer Verlag, Berlin: pp. 190.
- Holloway, P.J., 1974: Intracuticular lipids of spinach leaves.- *Phytochemistry*, **12**: 2913-2920.
- Holloway, P.J., 1982a: Structure and histochemistry of plant cuticular membranes: an overview.- In: Cutler, D.F., Alvin, K.L. & Price, C.E., (eds.): *The Plant Cuticle*.- Academic Press, New York: 1-32.
- Holloway, P.J., 1982b: The chemical constitution of plant cutins.- In: Cutler, D.F., Alvin, K.L. & Price, C.E., (eds.): *The Plant Cuticle*.- Academic Press, New York: 45-85.
- Hoppe, H.-G., 1996: Abbau von partikulärem Material.- In: Rheinheimer, G., (ed.): *Meereskunde der Ostsee*.- Springer Verlag, Berlin: 131-136.
- Horodyski, R.J. & Donaldson, J.A., 1983: Distribution and significance of microfossils in cherts of the Middle Proterozoic Dismal Lakes Group, District of Mackenzie, Northwest Territories, Canada.- *J. Paleontol.*, **57**: 271-288.
- Horsfield, B. & Douglas, A.G., 1980: The influence of minerals on the pyrolysis of kerogens.- *Geochim. Cosmochim. Acta*, **44**: 1119-1131.
- Ibrahim, R.K., 1965: The phenolic acid pattern of some pollen grains in relation to phylogeny.- *J. Palynol.*, **1**: 27-31.
- Ittekkot, V., Degens, E.T. & Brockmann, U., 1982: Monosaccharide composition of acid-hydrolyzable carbohydrates in particulate matter during a plankton bloom.- *Limnol. Oceanogr.*, **22**: 770-776.
- Jaffé, H.H. & Orchin, M., 1962: Theory and application of ultraviolet spectroscopy.- John Wiley & Sons, New York: pp. 624.
- Jansonius, J. & Craig, J.H., 1971: *Scolecodonts*: I. Descriptive terminology and revision of systematic nomenclature; II. Lectotypes, new names for homonyms, index of species.- *Bull. Canad. Petrol. Geol.*, **19**: 251-302.
- Jansonius, J. & Craig, J.H., 1974: Some scolecodonts in organic association from the Devonian strata of western Canada.- *Geosci. Man*, **9**: 15-26.
- Jansonius, J., 1981: Linnaean nomenclature - universallanguage of taxonomist - and the *Sporae dispersae* (with a commentary on Hughes proposal).- *Taxon*, **30**: 438-448.
- Jurid, L., 1969: Aluminum complexes of phenolic flavones. Spectral and structural correlations.- *Phytochem.*, **8**: 445-462.
- Kaiser, H. & Ashraf, R., 1974: Gewinnung und Präparation fossiler Sporen und Pollen sowie anderer Palynomorphae unter besonderer Betonung der Siebmethode.- *Geol. Jb. A*, **25**: 85-114.
- Kasahara, S., Uye, S. & Onbé, T., 1974: Calanoid copepod eggs in sea-bottom muds.- *Mar. Biol.*, **26**: 167-171.
- Katz, B.J., 1983: Limitations of "Rock-Eval" pyrolysis for typing organic matter.- *Org. Geochem.*, **4**: 195-199.
- Kawase, M. & Takahashi, M., 1995: Chemical composition of sporopollenin in *Magnolia grandiflora* (Magnoliaceae) and *Hibiscus syriacus* (Malvaceae).- *Grana*, **34**: 242-245.
- Kedves, M.J., 1985: Structural modification of degraded fossil sporomorphs.- *Micropaleont.*, **31**: 175-180.
- Kell, V., 1985: Untersuchungen zur Qualität und Quantität des Phytoplanktons im Greifswalder Bodden (südliche Ostsee) in den Jahren 1977-1984. I. Qualitativer Teil.- *Wiss. Z. Wilhelm-Pieck-Univ. Rostock, naturwiss. R.*, **34**: 32-40.
- Kell, V., 1986: Untersuchungen zur Qualität und Quantität des Phytoplanktons im Greifswalder Bodden (südliche Ostsee) in den Jahren 1977-1985. II. Quantitativer Teil.- *Wiss. Z. Wilhelm-Pieck-Univ. Rostock, naturwiss. R.*, **35**: 17-21.
- Kenig, F., Sinninghe Damsté, J.S., Kock-van Dalen, A.C., Rijpstra, W.I.C., Huc, A.Y. & de Leeuw, J.W., 1995: Occurrence and origin of mono-, di-, and trimethylalkanes in modern and Holocene cyanobacterial mats from Abu Dhabi, United Arab Emirates.- *Geochim. Cosmochim. Acta*, **59**: 2999-3015.

- Kessler, E., 1984: A general review on the contribution of chemotaxonomy to the systematics of green algae.- In: Irvine, D.E.G. & John, D.M., (eds.): Systematics of Green Algae.- Academic Press, London: 391-407.
- Kielan-Jaworowska, Z., 1966: Polychaete jaw apparatuses from the Ordovician and Silurian of Poland and comparison with modern forms.- Acta Palaeont. Polonica, 16: 1-152.
- Kies, L., 1970a: Elektronenmikroskopische Untersuchungen über Bildung und Struktur der Zygotenwand bei *Micrasterias papillifera* (Desmidiaceae) I. Das Exospor.- Protoplasma, 70: 21-47.
- Kies, L., 1970b: Elektronenmikroskopische Untersuchungen über Bildung und Struktur der Zygotenwand bei *Micrasterias papillifera* (Desmidiaceae) II. Die Struktur des Mesospor und Endospor.- Protoplasma, 71: 139-146.
- Kirchheimer, F., 1933: Die Erhaltung der Sporen und Pollenkörner in den Kohlen sowie ihre Veränderung durch die Aufbereitung.- Bot. Archiv, 35: 134-187.
- Kirk, T.K. & Farrell, R.L., 1987: Enzymatik "combustion": The microbial degradation of lignin.- Ann. Rev. Microbiol., 41: 465-505.
- Kliewe, H. & Janke, W., 1982: Der holozäne Wasserspiegelanstieg der Ostsee im nordöstlichen Küstengebiet der DDR.- Peterm. Geogr. Mitt., 126: 65-74.
- Klok, J., Cox, H.C., Baas, M., de Leeuw, J.W. & Schenck, P.A., 1984: Carbohydrates in recent marine sediments-II. Occurrence and fate of carbohydrates in a recent stromatolitic deposit: Solar Lake, Sinai.- Org. Geochem., 7: 101-109.
- Knicker, H., Scaroni, A.W. & Hatcher, P.G., 1996: ^{13}C and ^{15}N NMR spectroscopic investigation on the formation of fossil algal residues.- Org. Geochem., 24: 661-669.
- Knoll, A.H. & Golubic, S., 1992: Proterozoic and living cyanobacteria.- In: Schidlowski, M., Golubic, S.; Kimberley, M.M., McKirdy, D.M. & Trudinger, P.A., (eds.): Early Organic Evolution: Implications for Mineral and Energy Resources.- Springer-Verlag, Berlin: 450-462.
- Knülle, W., 1957: Vorkommen und Indikationswert von Oribatiden (Acari: Oribatei) in postglazialen Ablagerungen.- Zool. Anz., 159: 215-229.
- Koch, G., Bauch, J., Dünisch, O., Seehann, G. & Schmitt, U., 1996: Sekundäre Veränderungen im Holz akut belasteter Fichten (*Picea abies* [L.] Karst.) in Hochlagen des Osterzgebirges.- Holz als Roh- und Werkstoff, 54: 243-249.
- Kögel-Knabner, I., de Leeuw, J.W., Tegelaar, E.W., Hatcher, P.G. & Kerp, H., 1994: A lignin-like polymer in the cuticle of spruce needles: implications for the humification of spruce litter.- Org. Geochem., 21: 1219-1228.
- Kolattukudy, P.E. & Espelie, K.E., 1985: Biosynthesis of cutin, suberin, and associated waxes. In: Higuchi, T., (ed.): Biosynthesis and Biodegradation of Wood Components.- Academic Press, Orlando: 161-207.
- Kolattukudy, P.E., 1970: Plant waxes.- Lipids, 5: 259-274.
- Kolattukudy, P.E., 1980: Cutin, suberin and waxes.- In: Stumpf, P.K. & Conn, E.E., (eds.): The Biochemistry of Plants, Vol. 4, Lipids: Structure and Function.- Academic Press, New York: 571-654.
- Kolattukudy, P.E., 1981: Structure, biosynthesis, and biodegradation of cutin and suberin.- Ann. Rev. Plant Physiol., 32: 539-567.
- Kolattukudy, P.E., Walton, T.J. & Kushwaha, R.P.S., 1973: Biosynthesis of the C_{18} Family of cutin acids: ω -hydroxyoleic acid ω -hydroxy-9,10-epoxystearic acid, 9,10,18-trihydroxystearic acid, and their Δ^{12} -unsaturated analogs. - Biochemistry, 12: 4488-4498.
- Komárek, J. & Fott, B., 1983: Chlorophyceae (Grünalgen) Ordnung Chlorococcales.- In: Elster, H.-J. & Ohle, W., (ed.): Die Binnengewässer, 16, 7(1).- Schweizerbart, Stuttgart: pp. 1044.
- Köster, M., 1993: Mikrobielle Aktivitäten an Grenzflächen.- In: Meyer-Reil, L.-A. & Köster, M., (eds.): Mikrobiologie des Meeresbodens.- Gustav Fischer Verlag, Jena: 82-120.

- Kováčik, L., 1975: Taxonomic review of the genus *Tetraedron* (Chlorococcales).- Arch. Hydrobiol., Suppl., 46: 354-391.
- Kozłowski, R., 1956: Sur quelques appareils masticateurs des Annélides polychètes ordoviciens.- Acta Paleont. Polonica, 1: 165-205.
- Krutzsch, W. & Pacltová, B., 1990: Die Phytoplankton-Mikroflora aus den pliozänen Süßwasserablagerungen des Cheb-Beckens (Westböhmen, CSFR).- Acta Univ. Carol. Geol., 4: 345-420.
- Laackmann, H., 1908: Ungeschlechtliche und geschlechtliche Fortpflanzung der Tintinnen.- Wiss. Meeresunters., N.F. 10: 15-37.
- Lagerheim, G., 1901: Om lämningar af Rhizopoder, Heliozoer och Tintinnider: Sveriges och Finlands Lakustrina Kvartäraflageringar.- Geol. Fören. Förh., 23: 469-520.
- Langer, A., 1889: Über Bestandteile der Lycopodiumsporen (*Lycopodium clavatum*).- Diss. Erlangen; Norddeutsche Buchdruckerei und Verlagsanstalt, Berlin: pp. 46.
- Latala, A., 1991: Effects of salinity, temperature and light on the growth and morphology of green planktonic algae.- Oceanologia, 31: 91-101.
- Leschik, G., 1965: Die Entstehung der Braunkohle der Wetterau und ihre Mikro- und Makroflora.- Palaeontographica, B, 100: 122-142.
- Lindley, J.A., 1986: Dormant eggs of calanoid copepods in seabed sediments of the English Channel and southern North Sea.- J. Plankton Res., 8: 399-400.
- Livingstone, D. & Jaworski, G.H.M., 1980: The viability of akinetes of blue-green algae recovered from the sediments of Rostherne Mere.- Br. Phycol. J., 15: 357-364.
- Loeblich, A.R. jr. & Tappan, H., 1968: Annotated index to genera, subgenera and suprageneric taxa of the ciliate order Tintinnida.- J. Protozool., 15: 185-192.
- Logan G.A. & Eglinton, G., 1994: Biogeochemistry of the Miocene lacustrine deposit at Clarkia, northern Idaho, USA.- Org. Geochem., 21: 857-870.
- Logan, G.A., Smiley, C.J. & Eglinton, G., 1995: Preservation of fossil leaf waxes in association with their source tissues, Clarkia, northern Idaho, USA.- Geochim. Cosmochim. Acta, 59: 751-763.
- Lohmann, H., 1904: Eier und sogenannte Cysten der Planktonexpedition. Anhang: Cyphonautes.- In: Hensen, V., (ed.): Ergebnisse der in dem Atlantischen Ozean von Mitte Juli bis Anfang November 1889 ausgeführten Plankton-Expedition der Humboldt-Stiftung, Vol. IV.- Lipsius & Tischer, Kiel, Leipzig: 1-61.
- Lundqvist, G., 1936: Hochasiatische Binnenseesedimente.- Mem. Conn. Acad. Arts Sci., 10: 193-240.
- Mägdefrau, K., 1968: Paläobiologie der Pflanzen.- Gustav Fischer Verlag, Stuttgart; pp. 549.
- Marchessault, R.H. & Sarko, A., 1967: X-ray structures of polysaccharides.- Adv. Carbohydrate Chem., 22: 421-482.
- Marcus, N.H., 1990: Calanoid copepod, cladoceran, and rotifer eggs in sea-bottom sediments of northern Californian coastal waters: identification, occurrence and hatching.- Mar. Biol., 105: 413-418.
- Marret, F., 1993: Les effets de l'acétolyse sur les assemblages des kystes de dinoflagellés.- Palynosciences, 2: 267-272.
- Martin, J.T. & Juniper, B.E., 1970: The Cuticles of Plants.- St. Martin's Press, New York: pp. 347.
- Mastalerz, M. & Hower, J.C., 1996: Elemental composition and molecular structure of *Botryococcus* alginite in Westphalian cannel coals from Kentucky.- Org. Geochem., 24: 301-308.
- Matthiessen, J. & Brenner, W., 1996: Chlorococcalalgen und Dinoflagellaten-Zysten in rezenten Sedimenten des Greifswalder Bodden (südliche Ostsee).- Senckenbergiana maritima, 27: 33-48.
- Matthiessen, J., 1991: Dinoflagellaten-Zysten im Spätquartär des Europäischen Nordmeeres: Palökologie und Palä-Ozeanographie.- GEOMAR Rept., 7: 1-104.

- Maxwell, J.R., Douglas, A.G., Eglinton, G. & McCormick, A., 1968: The botryococcenes-hydrocarbons of novel structure from the alga *Botryococcus braunii*, Kützing.- *Phytochemistry*, **7**: 2157-2171.
- McKinney, D.E., Bortiatynski, J.M., Carson, D.M., Clifford, D.J., de Leeuw, J.W. & Hatcher, P.G., 1996: Tetramethylammonium hydroxide (TMAH) thermochemolysis of the aliphatic biopolymer cutan: insights into the chemical structure.- *Org. Geochem.*, **24**: 641-650.
- McMinn, A., Bolch, C. & Hallegraeff, G., 1992: *Cobricosphaeridium* Harland and Sarjeant: Dinoflagellate cyst or copepod egg?.- *Micropaleontology*, **38**: 315-316.
- Medioli, F.S. & Scott, D.B., 1988: Lacustrine thecamoebians (mainly Arcellaceans) as potential tools for palaeolimnological interpretations.- *Palaeogeogr., Palaeoclim., Palaeoecol.*, **62**: 361-386.
- Medioli, F.S. & Scott, D.B., Collins, E.S. & McCarthy, F.M.G., 1988: Fossil thecamoebians: Present status and prospects for the future.- In: Hemleben, C., Kaminski, M.A., Kuhnt, W. & Scott, D.B., (eds.): *Paleocology, Biostratigraphy, Paleoceanography and Taxonomy of Agglutinated Foraminifers*.- Nato ASI Series C, 327, Kluwer Academic Publ., Dordrecht: 813-839.
- Metzger, P. & Largeau, C., 1993: A new type of ether lipid comprising phenolic moieties in *Botryococcus braunii*. Chemical structure and abundance, and geochemical implications.- *Org. Geochem.*, **22**: 801-814.
- Metzger, P., Allard, B., Casadevall, E., Berkalo, C. & Couté, A., 1990: Structure and chemistry of a new chemical race of *Botryococcus braunii* (Chlorophyceae) that produces lycopadiene, a tetraterpene hydrocarbon.- *J. Phycol.*, **26**: 258-266.
- Meuter-Gerhards, A., Schwerdtfeger, C., Steuernagel, S., Wilmesmeier, S. & Wiermann, R., 1995: Studies on sporopollenin structure during pollen development.- *Z. Naturforsch.*, **50c**: 487-492.
- Meyer-Reil, L.-A., 1991: Ecological aspects of enzymatic activities in marine sediments.- In: Chrost, R.J., (ed.): *Microbial Enzymes in Aquatic Environments*.- Springer-Verlag, New York: 84-95.
- Meyer-Reil, L.-A., 1993: Mikrobielle Besiedlung und Produktion.- In: Meyer-Reil, L.-A. & Köster, M., (eds.): *Mikrobiologie des Meeresbodens*.- Gustav Fischer Verlag, Jena: 38-81.
- Millington, W.F. & Gawlik, S.R., 1967: Silica in the wall of *Pediastrum*.- *Nature*, **216**: 68.
- Moers, M.E.C., Boon, J.J. & de Leeuw, J.W., 1989: Carbohydrate speciation and PY-MS mapping of peat samples from a subtropical open marsh environment. - *Geochim. Cosmochim. Acta*, **53**: 2011-2021.
- Moner, J.G. & Chapman, G.B., 1963: Cell wall formation in *Pediastrum biradiatum* as revealed by electron microscope.- *Am. J. Bot.*, **50**: 992-998.
- Moritz, M., 1993: Stamm Tardigrada.- In: Kaestner, A., (Begr.): *Lehrbuch der speziellen Zoologie - Wirbellose Tiere*.- Bd. 1, Teil 3; 5. Aufl., Gustav Fischer Verlag, Jena: 496-616.
- Mudie, P.J. & Harland, R., 1996: Aquatic Quaternary.- In: Jansonius, J. & McGregor, D.C., (eds.): *Palynology: Principles and Applications*.- AASP Foundation, **2**: 843-877.
- Müller, H., 1970: Ökologische Veränderungen im Ottersteder See im Laufe der Nacheiszeit.- *Ber. Naturhist. Ges.*, **114**: 33-47.
- Muyzer, G. & Westbroek, P., 1989: An immunohistochemical technique for the localization of preserved biopolymeric remains in fossils.- *Geochim. Cosmochim. Acta*, **53**: 1699-1702.
- Muzzarelli, R., Jeuniaux, Ch. & Gooday, G.W., (eds.), 1986: *Chitin in Nature and Technology*.- Plenum Press, New York & London: pp. 583
- Nichols, J.M. & Adams, D.G., 1982: Akinetes.- In: Carr, N.G. & Whitton, B.A., (eds.): *The Biology of Cyanobacteria*.- Blackwell Scientific Publ., Oxford: 387-412.
- Niester, C. Gulz, P.-G. & Wiermann, R., 1987: "Epicuticular waxes" from exine material of pine pollen.- *Z. Naturforsch.*, **42c**: 858-862.
- Nip, M., Tegelaar, E.W., de Leeuw, J.W. & Schenck, P.A., 1986: A new non-saponifiable highly aliphatic and resistant biopolymer in plant cuticles.- *Naturwiss.*, **73**: 579-585.

- Nipkow, F., 1920: Vorläufige Mitteilung über Untersuchungen des Schlammabsatzes im Zürichsee.- Z. Hydrol., 1: 100-122.
- Nipkow, F., 1961: Die Rädertiere im Plankton des Zürichsees und ihre Entwicklungsphasen.- Z. Hydrol., 23: 398-461.
- Nipkow, F., 1962: Über die Sexual- und Dauerperioden einiger Zygnemales aus schweizerischen Kleingewässern.- Z. Hydrol., 24: 1-43.
- Odier, E. & Rouau, X., 1985: Les cellulases et les enzymes de dépolymérisation de la lignine.- In: Mouranches, A. & Costes, C., (eds.): Hydrolases et Dépolymerases: Enzymes d'Intérêt Industriel.- Bordas, Paris: 199-238.
- Onbé, T., 1985: Seasonal fluctuation in the abundance of populations of marine cladocerans and their resting eggs in the Inland Sea of Japan.- Mar. Biol., 87: 83-88.
- Pearce, R.B. & Rutherford, J., 1981: A wound-associated suberized barrier to the spread of decay in the sapwood of oak (*Quercus robur* L.).- Physiol. Plant Pathol., 19: 359-369.
- Perkampus, H.-H., 1986: UV-VIS-Spektroskopie und ihre Anwendungen.- Springer-Verlag, Berlin: pp. 208
- Peterson, C.A., Emanuel, M.E. & Wilson, C., 1982: Identification of an casparian band in the hypodermis of onion and corn roots.- Can. J. Bot., 60: 1529-1535.
- Pfiester, L.A., 1975: Sexual reproduction of *Peridinium cinctum* f. *ovoplanum* (Dinophyceae).- J. Phycol., 11: 259-265.
- Pfiester, L.A. & Anderson, D.M., 1987: Dinoflagellate reproduction.- In: Taylor, F.J.R., (ed.): The Biology of Dinoflagellates.- Bot. Monogr., 21; Blackwell Scientific Publ., Oxford: 611-648.
- Pollinger, U., 1987: Ecology of Dinoflagellates; freshwater ecosystems.- In: Taylor, F.J.R., (ed.): The Biology of Dinoflagellates.- Bot. Monogr., 21; Blackwell Scientific Publ., Oxford: 502-529.
- Potonié, H., 1908: Die rezenten Kaustobiolithe und ihre Lagerstätten, I. Die Sapropelite.- Abh. kgl. preuß. geol. L.-Anst., N.F., 55: 1-251.
- Potonié, R. & Rehnelt, K., 1974: Das Chlorophyll als Faziesindikator in Kaustobiolithen (Brennsteinen).- Bull. Soc. Royale Sci. de Liège, 43: 68-77.
- Potonié, R. & Reunert, D., 1935: Geologisch-chemische Untersuchungen von Sapropelen des Unterrückersees und Sackrower Sees.- Schr. Brennstoff-Geol., 10: 149-169.
- Potonié, R., Thomson, P.W. & Thiergart, F., 1950: Zur Nomenklatur und Klassifikation der neogenen Sporomorphae (Pollen und Sporen).- Geol. Jb., 65: 35-70.
- Potonié, R., 1956: Die stratigraphische Inkongruität der Organe des Pflanzenkörpers.- Paläontol. Z., 30: 88-94.
- Poulsen, N.E., Gudmundsson, L., Hansen, J.M. & Husfeldt, Y., 1990: Palynological preparation techniques, a new maceration-tank-method and other modifications.- DGU ser. C, 10: 1-23.
- Pradier, B., Bertrand, P., Martinez, L. & Laggoun-Defarge, F., 1991: Fluorescence of organic matter and thermal maturity assessment.- Org. Geochem., 17: 511-524.
- Prahl, A.-K., Springstube, H., Grumbach, K. & Wiermann, R., 1985: Studies on sporopollenin biosynthesis: The effect of inhibitors of carotenoid biosynthesis on sporopollenin accumulation.- Z. Naturforsch., 40c: 621-626.
- Prahl, A.K., Rittscher, M. & Wiermann, R., 1986: New aspects of Sporopollenin biosynthesis.- In: Mulcahy, P.L., Bergami Mulcahy, G. & Ottaviano, E., (eds.): Biotechnology and Biology of Pollen.- Springer Verlag, New York: 313-318.
- Puel, F., Largeau, C. & Giraud, G., 1987: Occurrence of a resistant biopolymer in the outer walls of the parasitic alga *Prototheca wickerhamii* (Chlorococcales): ultrastructural and chemical studies.- J. Phycol., 23: 649-656.
- Püttmann, W. & Goth, K., 1988: Analysis of hydrocarbons in algae-rich Messel Schale samples.- Cour. Forsch.-Inst. Senckenberg, 107: 105-117.

- Ramachandran, G.N. (ed.), 1967: Conformation of Biopolymers.- Academic Press, New York: pp. 785.
- Reid, P.C. & John, A.W.G., 1978: Tintinnid cysts.- J. mar. biol. Ass. U.K., **58**: 551-557.
- Reid, P.C. & John, A.W.G., 1981: A possible relationship between chitinozoa and tintinnids.- Rev. Paleobot. Palynol., **34**: 251-262.
- Reid, P.C., 1987: Mass encystment of a planktonic oligotrich ciliate.- Mar. Biol., **95**: 221-230.
- Reif, W.-E., 1981: Struktur und Biomechanik von Knochen.- In: Reif, W.-E., (ed.): Funktionsmorphologie.- Paläontologische Kursbücher 1: 61-69.
- Reissinger, A., 1939: Die "Pollenanalyse" ausgedehnt auf alle Sedimentgesteine der geologischen Vergangenheit.- Palaeontographica, Abt. B, **84**: 1-20.
- Reitsma, T., 1969: Size modification of recent pollen grains under different treatments.- Rev. Palaeobot. Palynol., **9**: 175-202.
- Riederer, M., 1991: Die Kutikula als Barriere zwischen terrestrischen Pflanzen und der Atmosphäre.- Naturwiss., **78**: 201-208.
- Robinson, N. & Eglinton, G., 1990: Lipid chemistry in Icelandic hot spring microbial mats.- Org. Geochem., **15**: 291-298.
- Robinson, N., Cranwell, P.A. & Eglinton, G., 1987: Sources of lipids in the bottom sediments of an English oligo-mesotrophic lake.- Freshwater Biol., **17**: 15-33.
- Rudall, K.M., 1963: The chitin/protein complexes of insects.- Adv. Insect Physiol., **1**: 257-313.
- Rudall, K.M., 1967: Conformation in chitin-protein complexes.- In: Ramachandran, G.N., (ed.): Conformation of Biopolymers.- Academic Press, London: 751-765.
- Rüst, D., 1885: Beiträge zur Kenntniss der fossilen Radiolarien aus Gesteinen des Jura.- Palaeontographica, N.S., **11**(31): 273-321.
- Schaumann, K., 1993: Marine Pilze.- In: Meyer-Reil, L.-A. & Köster, M., (eds.): Mikrobiologie des Meeresbodens.- Gustav Fischer Verlag, Jena: 144-195.
- Schink, B., 1989: Mikrobielle Lebensgemeinschaften in Gewässersedimenten.- Naturwiss., **76**: 364-372.
- Schnepf, E. & Koch, W., 1978: Über den Feinbau der "Ölalg" *Botryococcus braunii* Kützing (Chlorococcales).- Bot. Jahrb. Syst., **99** (2/3): 370-379.
- Schneise, W., 1973: Untersuchungen zur Produktionsbiologie des Greifswalder Boddens (südliche Ostsee). III. Abundanzen und Biomasseverteilung des Phytoplanktons im Jahreszyklus (1962-1965).- Wiss. Z. Univ. Rostock, math.-naturwiss. R., **22**: 629-639.
- Schönborn, W., 1967: Taxozönit der beschalteten Süßwasser-Rhizopoden: eine raumstrukturanalytische Untersuchung über Lebensraumerweiterung und Evolution bei der Mikrofauna.- Limnologica, **5**: 159-207.
- Schönwiese, C.D., 1979: Klimaschwankungen.- Springer Verlag, Berlin: pp. 181.
- Schopf, J.W., 1968: Microflora of the Bitter Springs Formation, Late Precambrian, central Australia.- J. Paleontol., **42**: 651-688.
- Schrank, E., 1988: Effects of chemical processing on the preservation of peridinioid dinoflagellates: a case from the Late Cretaceous of NE Africa.- Rev. Palaeobot. Palynol., **56**: 123-140.
- Schulze Osthoff, K. & Wiermann, R., 1987: Phenols as integrated compounds of sporopollenin from *Pinus* pollen.- J. Plant Physiol., **131**: 5-15.
- Schwab, K.W., 1966: Microstructure of some fossil and recent scolecodonts.- J. Paleont., **40**: 416-423.
- Schweingruber, F.H., 1996: Dendrochronologie - ein jahrgenauer Maßstab zur Entschlüsselung der Umwelt- und Menschheitsgeschichte.- Naturwiss., **83**: 370-377.
- Seilacher, A., 1979: Constructional morphology of sand dollars.- Paleobiology, **5**: 191-221.

- Shaw, G., 1970: Sporopollenin.- In: Harborne, J.B., (ed.): *Phytochemical Phylogeny*.- Academic Press, London: 31-58.
- Shaw, G., 1971: The chemistry of sporopollenin.- In: Brooks, Grant, P., Mui, M.D., Shaw, G. & Van Gijzel, P., (eds.): *Sporopollenin*.- Academic Press, London: 305-348.
- Shaw, G. & Apperley, D.C., 1996: ^{13}C -NMR spectra of *Lycopodium clavatum* sporopollenin and oxidatively polymerised β -carotene.- *Grana*, **35**: 125-127.
- Shaw, G. & Yeadon, A., 1964: Chemical studies on the constitution of some pollen and spore membranes.- *Grana*, **5**: 247-252.
- Shaw, G. & Yeadon, A., 1966: Chemical studies on the constitution of some pollen and spore membranes.- *J. chem. Soc. C*, **1966**: 16-22.
- Snell, T.W., Burke, B.E., & Messur, S.D., 1983: Size and distribution of resting eggs in a natural population of the rotifer *Brachionus plicatilis*.- *Gulf Res. Rept.*, **7**: 285-287.
- Soma, Y., Tanaka, A., Soma, M. & Kawai, T., 1996: Photosynthetic pigments and perylene in the sediments of southern basin of Lake Baikal.- *Org. Geochem*, **24**: 553-561.
- Southworth, D., 1974: Solubility of pollen exines.- *Am. J. Bot.*, **61**: 36-44.
- Southworth, D., 1990: Exine biochemistry.- In: Blackmore, S. & Knox, R.B., (eds.): *Microspores Evolution and Ontogeny*.- Academic Press, London: 193-212.
- Stach, E., 1970: Die Bedeutung der Zellulose für die Kohlenentstehung.- *Fortschr. Geol. Rheinld. u. Westf.*, **17**: 439-460.
- Stancliffe, R.P.W., 1989: Microforaminiferal linings: Their classification, biostratigraphy and paleoecology, with special reference to specimens from British Oxfordian sediments.- *Micropaleontology*, **35**: 337-352.
- Stancliffe, R.P.W., 1996: Microforaminiferal linings.- In: Jansonius, J. & McGregor, D.C., (eds.): *Palynology: Principles and Applications*.- AASP Foundation; **1**: 373-379.
- Stanley, E.A., 1966: The problem of reworked pollen and spores in marine sediments.- *Marine Geol.*, **4**: 397-408.
- Stasiuk, L.D. & Osadetz, K.G., 1990: The life cycle and phyletic affinity of *Gloeocapsomorpha prisca* Zalessky 1917 from Ordovician rocks in the Canadian Williston Basin.- *Geol. Surv. Canada, Paper 89-1D*: 123-137.
- Stasiuk, L.D., Kybett, B.D. & Bend, S.L., 1993: Reflected light microscopy and micro-FTIR of Upper Ordovician *Gloeocapsomorpha prisca* alginite in relation to paleoenvironment and petroleum generation, Saskatchewan, Canada.- *Org. Geochem.*, **20**: 707-719.
- Stewart, W.N., 1983: *Paleobotany and the Evolution of Plants*.- Cambridge University Press, Cambridge: pp. 405.
- Stout, S.A. & Spackman, W., 1989: Peatification and early colification of wood as deduced by quantitative microscopic methods.- *Org. Geochem.*, **14**: 285-298.
- Stout, S.A., Boon, J.J. & Spackman, W., 1988: Molecular aspects of the peatification and early coalification of angiosperm and gymnosperm woods.- *Geochim. Cosmochim. Acta*, **52**: 405-414.
- Strauch, F., 1973: Die Feinstruktur einiger Scolecodonten.- *Senckenbergiana lethaea*, **54**: 1-19.
- Szaniawski, H., 1996: Scolecodonts.- In: Jansonius, J. & McGregor, D.C., (eds.): *Palynology: Principles and Applications*.- AASP Foundation, **1**: 337-354.
- Tappan, H., 1980: *The Paleobiology of Plant Protists*.- Freeman & Co., San Francisco: pp. xxiv+1028.
- Tappan, H., 1993: Tintinnids.- In: Lipps, J.H., (ed.): *Fossil Prokaryotes and Protists*.- Blackwell, Oxford: 285-303.
- Tarafa, M.E., Whelan, J.K. & Farrington, J.W., 1988: Investigation on the effects of organic solvent extraction on whole-rock pyrolysis: Multiple-lobed and symmetrical P2 peaks.- *Org. Geochem.*, **12**: 137-149.

- Taugourdeau-Lantz, J. & Poignant, A., 1964: La membrane chitinoïde de quelques Foraminifères.- *Rev. Micropaléont.*, 7: 68-71.
- Taylor, F.J.R., 1987: Ecology of Dinoflagellates; General and marine ecosystems.- In: Taylor, F.J.R., (ed.): *The Biology of Dinoflagellates*.- Bot. Monogr., 21; Blackwell Scientific Publ., Oxford: 399-502.
- Taylor, F.J.R., 1990: Phylum Dinoflagellata.- In: Margulis, L., Corliss, J.O., Melkonian, M., Chapman, D.J. & McKhann, H.I., (eds.): *Handbook of Protoctista*.- Jones & Bartlett, Boston: 419-437.
- Taylor, T.N. & Taylor, E.L., 1993: *The Biology and Evolution of Fossil Plants*.- Prentice Hall, Englewood Cliffs: pp. 982.
- Tegelaar, E.W., de Leeuw, J.W., Derenne, S. & Largeau, C., 1989: A reappraisal of kerogen formation.- *Geochim., Cosmochim. Acta*, 15: 3103-3106.
- Tegelaar, E.W., de Leeuw, J.W., Largeau, C., Derenne, S., Schulten, H.R., Müller, R., Boon, J.J., Nip, M. & Sprenkels, J.C.M., 1989: Scope and limitations of several pyrolysis methods in the structural elucidation of macromolecular plant constituent in the leaf cuticle of *Agave americana* L.- *J. Anal. Appl. Pyrolysis*, 15: 29-54.
- Teichmüller, M., 1971: Anwendung kohlepetrographischer Methoden bei der Erdöl- und Erdgasprospektion.- *Erdöl, Kohle, Erdgas, Petrochem.*, 24: 69-76.
- Thomas, J.B., Marshall, J., Mann, A.L., Summons, R.E. & Maxwell, J.R., 1993: Dinosteranes (4,23,24-trimethylsteranes) and other biological markers in dinoflagellate-rich sediments of Rhaetian age.- *Org. Geochem.*, 20: 91-104.
- Tissot, B.P. & Welte, D.H., 1984: *Petroleum Formation and Occurrence*.- Springer Verlag, Berlin; pp. 699.
- Tolonen, K., 1986: Rhizopod analysis.- In: Berglund, B.E., (ed.): *Handbook of Holocene Palaeoecology and Palaeohydrology*.- Wiley & Sons, New York: 645-666.
- Tomas, R.N. & Cox, E.R., 1973a: *Peridinium balticum* (Levander) Lemmermann, an unusual dinoflagellate with a mesocaryotic and an eucaryotic nucleus.- *J. Phycol.*, 9: 91-98.
- Tomas, R.N. & Cox, E.R., 1973b: Observations on the symbiosis of *Peridinium balticum* and its intracellular alga. I. Ultrastructure.- *J. Phycol.*, 9: 304-323.
- Traverse, A., 1957: The nomenclatural problem of plant microfossil species belonging to extant genera.- *Micropaleontology*, 3: 255-258.
- Traverse, A., 1988: *Paleopalynology*.- Unwin Hyman, Boston: pp. 600.
- Traverse, A., 1996: Nomenclature and taxonomy: systematics. A rose by any other name would be very confusing.- In: Jansonius, J. & McGregor, D.C., (eds.): *Palynology: Principles and Applications*.- AASP Foundation, 1: 11-28.
- Tyson, R.V., 1995: *Sedimentary Organic Matter*.- Chapman & Hall, London: pp. 615.
- Van der Hammen, T., 1955: Principios para la nomenclatura palinológica sistemática.- *Bol. Geol.*, 2(2): 1-21.
- Van Geel, B., Hallewas, D.P. & Pals, J.P., 1983: A Late Holocene deposit under the Westfriese Zeedijk near Enkhuizen (Prov. of Noord-Holland, The Netherlands): palaeoecological and archaeological aspects.- *Rev. Palaeobot. Palynol.*, 38: 269-335.
- Van Geel, B., 1979: Preliminary report on the history of Zygnemataceae and the use of their spores as ecological markers.- *Proc. IV int. palynol. conf., Lucknow (1976-1977)*, 1: 467-469.
- Van Geel, B., Coope, G.R. & Van der Hammen, T., 1989: Palaeoecology and stratigraphy of the Lateglacial type section at Usselo (the Netherlands).- *Rev. Palaeobot. Palynol.*, 60: 25-129.
- Van Geel, B., Mur, L.R., Ralska-Jasiewiczowa, M. & Goslar, T., 1994: Fossil akinetes of *Aphanizomenon* and *Anabaena* as indicators for medieval phosphate-eutrophication of Lake Gosciaz (Central Poland).- *Rev. Palaeobot. Palynol.*, 83: 97-105.
- Van Gijzel, P., 1967: Palynology and fluorescence microscopy.- *Rev. Palaeobot. Palynol.*, 2: 49-79.

- Van Gijzel, P., 1979: Manual of the techniques and some applications of fluorescence microscopy.- AASP, Workshop, Dallas: pp. 55.
- Van Gijzel, P., 1982: Characterisation and identification of Kerogen and bitumen and determination of thermal maturation by means of qualitative and quantitative microscopy.- In: Staplin, F.L., Dow, W.G., Milner, C.W.D., O'Connor, D.I., Pocock, S.A.J., Van Gijzel, P., Welte, D.H. & Yukler, M.A., (eds.): How to Assess Maturation and Paleotemperatures.- SEPM, Short Course, 7: 159-216.
- Van Waveren, I.M., 1992: Morphology of probable planktonic crustacean eggs from the Holocene of the Banda Sea (Indonesia).- In: Head, M.J. & Wrenn, J.H., (eds.): Neogene and Quaternary Dinoflagellate Cysts and Acritarchs.- AASP Foundation, Dallas: 89-120.
- Van Waveren, I.M., 1993: Planktonic organic matter in surficial sediments of the Banda Sea (Indonesia) - a palynological approach.- Geol. Ultraiectina, 104: 1-237.
- Voigt, E., 1935: Die Erhaltung von Epithelzellen mit Zellkernen von Chromatophoren und Chlorinen in fossiler Froschhaut aus der mitteleozänen Braunkohle des Geiseltales.- Nova Acta Leopoldina, N.F., 3: 339-360.
- Voigt, E., 1949: Mikroskopische Untersuchungen an fossilen tierischen Weichteilen.- Z. deutsch. geol. Ges., 101: 99-104.
- Voss-Foucart, M.F., Fonze-Vignaux, M.T. & Jeuniaux, C., 1973: Systematic characters of some annelid polychaetes at the level of the chemical composition of the jaws.- Biochem. System. Ecol., 1: 119-122.
- Wake, L.V. & Hillen, L.W., 1981: Nature and hydrocarbon content of blooms of the alga *Botryococcus braunii* occurring in Australian freshwater lakes.- Aust. J. Mar. Freshwater Res., 32: 353-367.
- Walker, I.R., Smol, J.P., Engstrom, D.R. & Birks, H.J.B., 1991: An assessment of Chironomidae as quantitative indicators of past climatic change.- Canad. J. Fish. Aquat. Sci., 48: 975-987.
- Werner, F. & Willkomm, H., 1970: Prälitorinazeitliche Sedimente aus der Kieler Bucht.- Eiszeitalter u. Gegenwart, 21: 186-187.
- Wesenberg-Lund, C., 1896: Om Ferskvandsfaunaens Kitin- og Kisellevinger i Tørvelagene.- Medd. dansk geol. Foren., 3: 51-85.
- Wetzel, O., 1933: Die in organischer Substanz erhaltenen Mikrofossilien des Baltischen Kreide-Feuersteins mit einem sediment-petrographischen und stratigraphischen Anhang (Schluss).- Palaeontographica, A, 77(1-3): 1-110.
- Wetzel, O., 1957: Fossil "microforaminifera" in various sediments and their reaction to acid treatment.- Micropaleont., 3(1): 61-64.
- Wheeler, J.W., 1982: The occurrence of obturacula in microforaminifera.- Rev. Palaeobot. Palynol., 38: 91-97.
- Whiteside, M.C. & Swindoll, M.R., 1988: Guidelines and limitations to cladoceran paleaecological interpretations.- Palaeogeogr., Palaeoclimatol., Palaeoecol., 62: 405-412.
- Wiermann, R. & Vieth, K., 1983: Outer pollen wall, an important accumulation site for flavonoids.- Protoplasma, 118: 230-233.
- Wilkins, R.W.T., Wilmshurst, J.R., Hladky, H., Ellacott, M.V. & Buckingham, C.P., 1995: Should fluorescence alteration replace vitrinite reflectance as a major tool for thermal maturity determination in oil exploration?- Org. Geochem., 22: 191-209.
- Wilmesmeier, S. & Wiermann, R., 1995: Influence of EPTC (S-Ethyl-dipropyl-thiocarbamate) on the composition of surface waxes and sporopollenin structure in *Zea mays*.- J. Plant Physiol., 146: 22-28.
- Wilmesmeier, S., Steuernagel, S. & Wiermann, R., 1993: Comparative FTIR and ¹³C CP/MAS NMR spectroscopic investigation on sporopollenin of different systematic origins.- Z. Naturforsch., 48c: 697-701.

- Wilson, L.R. & Hoffmeister, W.S., 1953: Four new species of fossil *Pediastrum*.- Am. J. Sci., **251**: 753-760.
- Winn, K., Averdieck, F.-R. & Werner, F., 1982: Spät- und postglaziale Entwicklung des Vejsnaes-Gebietes (westliche Ostsee).- Meyniana, **34**: 1-38.
- Winn, K., Averdieck, F.R., Erlenkeuser, H. & Werner, F., 1986: Holocene sea level rise in the Western Baltic and the question of isostatic subsidence.- Meyniana, **38**: 61-80.
- Wolf, F.R. & Cox, E.R., 1981: Ultrastructure of active and resting colonies of *Botryococcus braunii* (Chlorophyceae).- J. Phycol., **17**: 395-405.
- Wolf, F.R., Nonomura, A.M. & Bassham, J.A., 1985: Growth and branched hydrocarbon production in a strain of *Botryococcus braunii* (Chlorophyta).- J. Phycol., **21**: 388-396.
- Wolfbeis, O.S., (ed.), 1993: Fluorescence Spectroscopy - New Methods and Applications.- Springer Verlag, Berlin: pp. 310.
- Wood, G.D., Gabriel, A.M. & Lawson, J.C., 1996: Palynological techniques - processing and microscopy.- In: Jansonius, J. & McGregor, D.C., (eds.): Palynology: Principles and Applications.- AASP Foundation, **1**: 29-50.
- Wrenn, J.H. & Kokinos, J.P., 1986: Preliminary comments on Miocene through Pleistocene dinoflagellate cysts from De Soto Canyon, Gulf of Mexico.- AASP Contrib. Ser., **17**: 169-225.
- Zetzsche, F. & Vicari, H., 1931a: Untersuchungen über die Membran der Sporen und Pollen, II. *Lycopodium clavatum* L.2.- Helv. chim. Acta, **14**: 58-62.
- Zetzsche, F. & Vicari, H., 1931b: Untersuchungen über die Membran der Sporen und Pollen III. 2. *Picea orientalis*, *Pinus silvestris* L., *Corylus avellana* L. - Helv. chim. Acta, **14**: 62-67.
- Zetzsche, F. & Huggler, K., 1928: Untersuchungen über die Membran der Sporen und Pollen. I. 1. *Lycopodium clavatum* L.- Justus Liebigs Ann. Chem., **461**: 89-108.
- Zetzsche, F., Kalt, P., Liechti, J. & Ziegler, E., 1937: Zur Konstitution des *Lycopodium*-Sporins, des Tasmanins und des Lange-Sporonins. XI. Mitteilung über die Membran der Sporen und Pollen.- J. prakt. Chem. N.F., **148**: 267-286.
- Zetzsche, F., Vicari, H. & Schärer, G., 1931: Untersuchungen über die Membran der Sporen und Pollen IV. 3: Fossiles Sporopollenin aus dem Tasmanit und der Moskauer Braunkohle.- Helv. chim. Acta, **14**: 67-78.
- Zhang, C., 1977: On the discovery of the fossil blue-green algae from the Lower Tertiary of northern Kiangsu.- Acta Palaeont. Sinica, **16**: 159-165.
- Zimmermann, W., 1959: Die Phylogenie der Pflanzen.- Gustav Fischer Verlag, Stuttgart: pp. 777.
- Zingula, R.P., 1968: A new breakthrough in sample washing.- J. Paleont., **42**: 1092.